REVISTA BRASILEIRA DE BIOLOGIA

VOLUME 1 JUNHO, 1941 NÚMERO 2

UM NOVO "ADELOCEPHALIDÆ" BURMEISTER, 1878 [1]

LAURO TRAVASSOS e EDUARDO MAY

Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

Museu Nacional, Rio de Janeiro, D. F.

(Com 6 figuras no texto)

Descrevemos, na presente nota, uma espécie nova de *Adelocephalidae* (= *Sissphingidae*) de dois exemplares masculinos da coleção EDUARDO MAY, provenientes do Estado do Pará.

A nomenclatura desta família *Adelocephalidae*, da qual *Sissphingidae* é sinônimo, é muito confusa por não terem os autores que se têm ocupado com estes insetos observado com rigor as Regras Internacionais de Nomenclatura Zoológica. A êste respeito o Dr. JOSÉ OITICICA FILHO fez estudos recentemente publicados.

Adelowalkeria torresi n. sp.

(Figs. 1-6)

MACHO

Dimensões: Asa anterior 38 mm. por 19 mm. Asa posterior 22 mm. por 17 mm. Cabeça pouco destacada do torax e com a coloração deste. Palpos rudimentares, escondidos pelas escamas que guarnecem a região bucal. Fronte sub-triangular. Antenas pardacentas com cerca de 15 artículos tetrapectinados e os restantes filiformes. Torax com a face superior de coloração alaranjada (n.º 104 do codigo de SEGUY) uniforme. Na face inferior com tonalidade violácea.

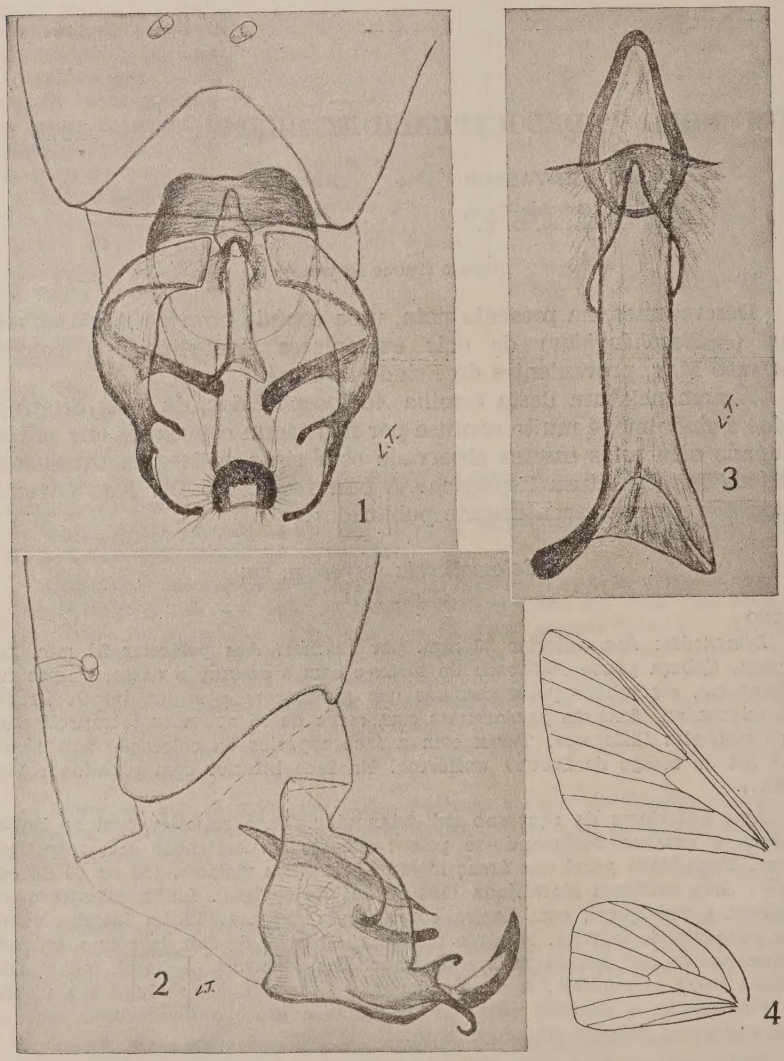
Asas anteriores de contorno sub-triangular. Face superior com as linhas interna e externa destacando-se pelo contraste da coloração das respetivas áreas. Tonalidade geral das áreas interna e externa violácea (80 ou 90 do codigo). Área mediana alaranjada (186 ou 201 do codigo). Linha externa quasi retilínea e pré-apical, com ligeira concavidade externa. Linha interna curva com concavidade interna. Na área mediana, ao nivel do fim da célula, existem 3 manchas de côr branca pura e de dimensões variaveis. A basal, maior, fica situada entre as cubitais. A distal, menor, é situada entre a Cub.[1] e a última M. Finalmente, a anterior entre as medianas e junto a discocelular sobre a qual emite um delgado prolongamento.

Face inferior com a linha interna ausente e a linha externa correspondendo à da face superior, destaca-se do resto da asa pela coloração mais intensa. A côr geral da face inferior é violeta lilá (80 do codigo), mais claro nas margens,

[1] Recebido para publicação a 18 de Março de 1941.

mais escuro na área mediana (104 do codigo). Existe uma ligeira mancha discocelular ligeiramente mais escura que no resto da asa.

Asa posterior de contorno sub-triangular, com a margem anterior em arco, e as externa e interna sub-retilíneas. A face superior é de coloração vinácea



Adelocephala torresi n. sp.: Fig. 1 — genitália, vista ventral; fig. 2 — idem, vista lateral; fig. 3 — falosoma; fig. 4 — nervulação (decalque de fotografia);

uniforme (80 do codigo) com a margem anal mais escura devido a presença de longos pêlos. Apresenta vestígios pouco nítidos da linha externa. A face in-

ferior com a mesma coloração, porém com tonalidade violácea e com a linha externa bem nítida e praticamente paralela à margem externa.

Nervulação: Asa anterior — R^2 nascendo logo adiante do ângulo anterior da célula e não atingindo o ápice da asa; R^{3+4} no ápice e com pedúnculo comum a R^5 e M^1 e partindo do ângulo da célula; M^{2+4} partindo do terço anterior da discocelular; M^5 partindo do ângulo posterior da célula; Cub^1 próximo do ângulo; Cub^2 abaixo do meio da célula; A^1 atingindo o ângulo posterior da asa. Asa posterior — SC terminando antes do ângulo da asa; R^1 partindo do meio da célula e terminando no ângulo da asa; R^{2+N} partindo de perto do ângulo anterior da célula; M^{1+3} partindo do ângulo anterior da célulo; M^{4+5} do ângulo posterior; Cub^1 quasi no ângulo; Cub^2 partindo do fim do segundo terço da célula; A^1 atingindo o ângulo posterior da asa; A^2 terminando no meio da margem interna.

Adelocephala torresi n. sp.: Fig. 5 — face ventral; fig. 6 — face dorsal. (Fot. M. Ventel).

Pernas de coloração uniforme violácea com a face interna dos tarsos amareladas.

Abdômen dorsalmente alaranjado com a área mediana da face superior da asa anterior. Ventralmente, violáceo como a face inferior das asas.

Genitália (figs. 1-3) — 10.º tergito piloso e alongado em forma de colher; 10.º esternito membranoso sem estrutura definida. 9.º tergito pouco quitinizado, com vínculos delgados; 9.º esternito largo e simples. Clasper de base larga, com contorno ventral simples e tendo dorsalmente dois prolongamentos cilíndricos fortemente quitinizados, sendo o dorsal dirigido para trás e curvado para dentro e o ventral dirigido para baixo e para dentro. Lembram um chifre de veado com 2 ramos. Harpa partindo da margem inferior do clasper e se dirigindo para a face dorsal até o meio da largura deste para então se destacar e dirigir-se em direção a extremidade distal do falosoma. A primeira porção é soldada ao clasper e pouco quitinizada, a segunda livre e fortemente quitinizada termina em ponta obtusa e rugosa. Funil do falosoma pouco quitinizado e com abertura de passagem do falosoma sub-cordiforme. Falosoma simples e com a extremidade distal dilatada e dividida em uma ponta curta e arredondada e outra claviforme e fortemente quitinizada de contorno terminal serrilhado. O 8.º tergito apresenta um par de orgãos constituidos por duas invaginações em dedo de luva e tendo no interior delgados pêlos.

Proveniência — Estado do Pará, Brasil.

Tipo e paratipo na coleção Eduardo May, colecionados por M. Moss.

Esta espécie é muito próxima de *tristigma* e de *flavosignata* das quais se distingue com muita facilidade pela coloração geral e principalmente pela conformação da genitália.

O nome da espécie é dado em reconhecimento ao interesse manifestado pelos estudos dos Lepidópteros pelo atual diretor do Museu Nacional do Rio de Janeiro.

BIBLIOGRAFIA

OITICICA FILHO, J., 1941, Sobre a nomenclatura dos Lepidopteros da familia *Adelocephalidae*. *Arq. Zool. S. Paulo*, 2 : 325-339.

TRAVASSOS, L., 1941, Adelocefalideos do Estado de Mato Grosso, capturados pela Expedição do Instituto Oswaldo Cruz. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 35 (3) : 577-588, ests. 1-8, 48 figs.

Rev. Brasil. Biol., 1 (2): 121-123
Junho, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

NOVO TREMATÓDEO PARANFISTOMÍDEO PARASITO DE RÃ" — "CATADISCUS INOPINATUS" N. SP. [1]

J. F. TEIXEIRA DE FREITAS
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

(Com 2 figuras no texto)

Em 1939 publicamos, em colaboração com HERMAN LENT, um trabalho sobre o gênero *Catadiscus* Cohn, 1904 (Revisão do gênero *Catadiscus* Cohn, 1904 (Trematoda. Paramphistomoidea), *Bol. Biol.*, n. s., 4 (2): 305-315, 20 figs.), no qual foram estudadas as seguintes espécies: *C. dolichocotyle* (Cohn, 1903); *C. cohni* Travassos, 1928; *C. pygmaeus* (Lutz, 1928); *C. marinholutzi* Freitas & Lent, 1939 e *C. uruguayensis* Freitas & Lent, 1939. A espécie *C. marinholutzi*, parasita de rãs (*Leptodactylus ocellatus* (L.) e *Leptodactylus caliginosus* (Gir.)) e proveniente do Estado de Mato Grosso (Camisão e Salobra), foi posteriormente coletada em *L. ocellatus* capturado em Ilha Seca, no Estado de S. Paulo, durante a terceira excursão à zona da Estrada de Ferro Noroeste do Brasil, realizada pela Comissão do Instituto Oswaldo Cruz em Fevereiro e Março de 1940.

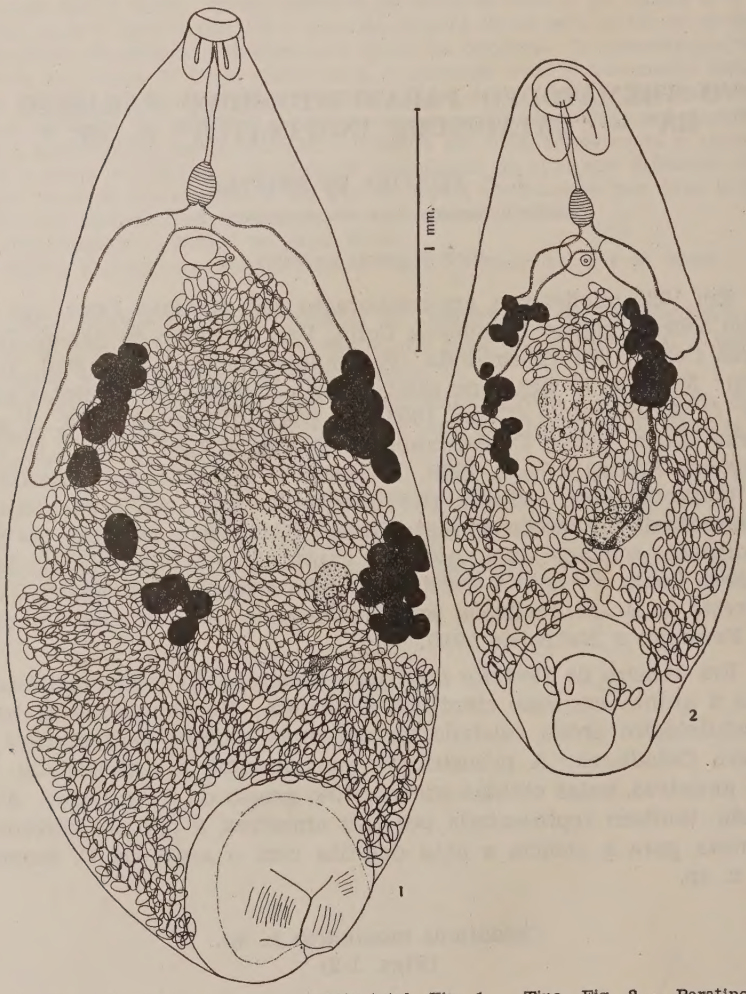
Em Janeiro de 1941 foi feita pela Comissão do Instituto Oswaldo Cruz a quinta excursão científica à Salobra. No abundante material helmintológico então coletado vieram duas espécies pertencentes ao gênero *Catadiscus*. A primeira, *C. marinholutzi*, é representada por tres amostras, todas obtidas em intestino grosso de *L. ocellatus*. A segunda, tambem representada por três amostras, é por nós considerada nova para a ciência e aqui descrita com o nome de *C. inopinatus* n. sp.

Catadiscus inopinatus n. sp.
(Figs. 1-2)

Corpo sub-piriforme, medindo 2,51 a 3,95 mm. de comprimento por 1,21 a 1,71 mm. de maior largura. Cutícula lisa. Ventosa oral terminal, provida de dois divertículos mais ou menos desenvolvidos, menores em comprimento que o pre-

[1] Recebido para publicação a 24 de Março de 1941.
Trabalho do Laboratório de Helmintologia do Instituto Oswaldo Cruz.

faringe, e medindo 0,096 a 0,113 mm. de comprimento sem os divertículos e 0,261 a 0,278 mm. com êstes. A largura medida ao nivel dos divertículos é de 0,24 a 0,32 mm. Pre-faringe mais ou menos delgado, com 0,39 a 0,43 mm. de comprimento. Faringe musculoso, com 0,13 a 0,17 mm. de comprimento por 0,09 a 0,11 mm. de largura. Esôfago quasi nulo. Cecos mais ou menos desenvolvidos, terminando quasi ao nivel do equador do corpo. Acetábulo sub-terminal, com



Catadiscus inopinatus n. sp. — Aspeto total. Fig. 1 — Tipo. Fig. 2 — Paratipo.

0,65 a 0,88 mm. de comprimento por 0,53 a 0,78 mm. de largura, apresentando um estrangulamento mediano, transversal, bem desenvolvido. Poro genital pre-equatorial, mediano ou sub-mediano, bifurcal. Bolsa do cirro relativamente pequena, geralmente globosa, com 0,14 a 0,19 mm. de comprimento por 0,14 a 0,21 mm. de largura. Testículo único, mediano ou sub-mediano, de forma variavel, situado logo abaixo da zona cecal, às vezes invadindo-a, medindo 0,43

a 0,52 mm. de comprimento por 0,43 a 0,48 mm. de largura. Ovário sub-mediano, post-testicular, com campo e zona parcialmente superpondo-se ou não com os do testículo, mais ou menos globoso, com 0,17 a 0,23 mm. de comprimento por 0,16 a 0,17 mm. de largura. Glândula de Mehlis post-equatorial, post-ovariana, com campo coincidindo com o do ovário e zona afastada, ou, então, situada na região ovariana, mais ou menos desenvolvida. Vitelinos constituidos por folículos grandes, mais ou menos compactos, situados lateralmente, extendendo-se do terço anterior da zona cecal até um pouco abaixo da zona equatorial do corpo. Útero dorsal, ocupando toda a largura do corpo, indo da zona bifurcal até a zona acetabular. Ovos operculados, com 0,084 a 0,101 mm. de comprimento por 0,050 a 0,055 mm. de largura. Sistema linfático presente, complexo.

Habitat — Intestino grosso de *Leptodactylus ocellatus* (L.).

Proveniência — Salobra, Estado de Mato Grosso, Brasil.

Tipo e paratipos na coleção helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz.

Examinamos desta espécie cinco exemplares colhidos em tres autópsias. Todos foram medidos e dois desenhados. Em um dêles notamos a atrofia do testículo e do ovário. Observamos ainda a presença de ciliados no interior dos cecos intestinais, o que indica a ingestão, pelo trematódeo, desses protozoários, existentes no intestino grosso do hospedador.

Catadiscus inopinatus n. sp. aproxima-se de *C. marinholutzi* Freitas & Lent, 1939, da qual, entretanto, se distingue facilmente pela disposição dos vitelinos.

ABSTRACT

The author describes *Catadiscus inopinatus*, new trematode-species of South American frog. The new species resembles *C. marinholutzi* Freitas & Lent, 1939, but differs of it by the disposition of the vitellaria.

Rev. Brasil. Biol., 1 (2): 125-127
Junho, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

SOBRE UM NOVO TIPO DE "DICROCOELIIDÆ": — "EVANDROCOTYLE PARAENSE" N. G., N. SP. [1]

GETH JANSEN

Serviço de Estudo das Grandes Endemias, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

(Com uma figura no texto)

Entre o material helmintológico colecionado pelo Serviço de Estudo das Grandes Endemias e remetido ao Laboratório de Helmintologia do Instituto Oswaldo Cruz, existem 4 exemplares de um *Dicrocelideo* encontrado na vesícula e canais biliares de uma mucura xixica — *Caluromys philander* (L.). Esse material nos foi entregue para estudo pelo Dr. LAURO TRAVASSOS.

Trata-se de um *Dicrocelideo* de estrutura peculiar que muito se aproxima do parasito descrito por SANDGROUND, em 1935, sob o nome de *Dictyonograptus pipistrelli*, encontrado no fígado e pâncreas de um morcego africano (*Pipistrelli nana*).

SANDGROUND descrevendo sua espécie, observa que ela apresenta alguns caracteres discordantes da diagnose do gênero dada por TRAVASSOS em 1919. Assim, a forma do corpo, a terminação cecal e a disposição das alças uterinas, são entre outros, caracteres que obrigaram SANDGROUND a modificar a diagnose genérica de *Dictyonograptus*, para nesse gênero enquadrar sua espécie.

Para o parasito objeto de nossos estudos, que representa uma espécie ainda não conhecida, propomos um novo gênero, *Evandrocotyle*, em homenagem ao nosso inesquecivel chefe, Dr. EVANDRO CHAGAS.

Evandrocotyle paraense n. sp.

Parasitos redondos, de côr pardacenta em vida. O material fixado e comprimido, mede 5,4 a 5,6 mm. de comprimento por uma largura máxima de 4,9 a 5,3 mm. Cutícula sem escamas, porém com algumas papilas punctiformes e regularmente distribuidas. Acetábulo ligeiramente maior do que a ventosa oral, medindo nos exemplares comprimidos cerca de 1,2 a 1,7 mm. de diâmetro e situado no equador do corpo. Ventosa oral sub-terminal medindo cerca de 0,9 a

[1] Recebido para publicação a 28 de Março de 1941.
Trabalho do Laboratório de Helmintologia do Instituto Oswaldo Cruz.

1,2 mm. de diâmetro. Pre-faringe ausente. Faringe redondo em seguida à ventosa oral, com cerca de 0,26 a 0,27 mm. de diâmetro. Esôfago estreito e curto, tendo cerca de 0,22 a 0,38 mm. de comprimento. Cecos largos e longos, aproximando-se muito da extremidade posterior do corpo. Terminam a cerca de 0,5 a 0,7 mm. da extremidade posterior. Poro genital mediano, post-bifurcal. Bolsa do cirrus relativamente pequena, contendo cirrus, próstata e vesícula seminal enovelada; mede cerca de 0,38 a 0,52 mm. de comprimento por 0,10 a 0,12 de maior largura. Canais deferentes separados desde a bolsa do cirrus. Testículos pre-acetabulares com zonas coincidindo e campos muito afastados. São elipsoides, com maior eixo transversal e medem cerca de 0,33 a 0,53 por 0,15 a 0,45 de diâmetros máximos. Ovário elipsoide, transversal, situado abaixo da

Fig. 1 — *Evandrocotyle paraense* n. sp. Aspecto total.

zona acetabular, com cerca de 0,36 a 0,76 por 0,33 a 0,61 de maiores diâmetros. Canal de Laurer presente. Glândula de Mehlis abaixo e ao lado do ovário, com cerca de 0,53 por 0,22 de diâmetro. Espermateca situada adiante da glândula de Mehlis e ao lado do ovário, medindo cerca de 0,18 por 0,26 a 0,27 por 0,38 mm. Vitelinos extra-cecais situados da zona acetabular para baixo. Cada vitelino é constituido por dois grupamentos de folículos volumosos e pouco numerosos nitidamente afastados, de modo a constituir quatro grupamentos glandulares.

Útero constituido por alças pouco densas ocupando toda a área do corpo extra e intra-cecal, desde a zona da ventosa oral. As alças contendo ovos menos amadurecidos ficam situadas na metade posterior do corpo. Ovos operculados, de côr castanha parda, medindo cerca de 0,045 a 0,049 de comprimento por 0,026 a 0,038 de maior largura. Poro excretor terminal. Vesícula excretora ampla, curta e simples.

Habitat — Vesícula e canais biliares de *Caluromys philander* (L.).

Proveniência — Aurá, Estado do Pará, Brasil.

Tipo e paratipos na coleção helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz, n.º 12068.

Evandrocotyle n. g.

Dicrocoeliidae: Corpo redondo; acetábulo equatorial; cecos longos e largos; poro genital mediano; bolsa do cirrus com vesícula seminal enovelada; testículos intra-cecais, pre-acetabulares, com zonas cincidindo e campos afastados; ovário mediano, post-acetabular ou parcialmente na zona acetabular; espermateca presente, ao lado do ovário; vitelinos extra-cecais; útero com numerosas alças pouco densas e ocupando toda a área do corpo, cecal e intra-cecal, desde a zona da ventosa oral até a extremidade posterior. Parasitos de vesícula biliar de vertebrados.

Espécie tipo: *Evandrocotyle paraense* n. sp.

Nesse gênero entra tambem o parasito descrito por SANDGROUND com o nome de *Dictyonograptus pipistrelli* em 1935. E' bem provavel que o parasito descrito por SKRJABIN & MASSINO em 1925, da vesícula biliar de *Muscicapa grisola*, com o nome de *Eurytrema koschewinikowi*, seja também incluido nesse gênero, apesar de não terem sido referidos na descrição original, nem os cecos nem o acetábulo, e ter sido mencionado um ovário lobado. Só um melhor estudo desta espécie, poderá resolver em definitivo este assunto.

BIBLIOGRAFIA

SANDGROUND, J. H., 1937: Three new Dicrocoeliids from African Cheiroptera, *Papers on Helminthology published in commemoration of the 30 years Jubileum of K. J. Skrjabin*, pp. 581-585, 3 figs.

SKRJABIN, K. J. & MASSINO, B. C., 1925, Trematoden bei den Voegeln der Moskauer Gouvernements, *Zbl. Bakt.*, 2 Abt., 64: 453-462, 3 figs.

Rev. Brasil. Biol., 1 (2): 129-144
Junho, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO DO GÊNERO "EACLES" HUBNER, 1819 (Lep. Adelocephalidæ) [1]

JOSÉ OITICICA FILHO
Colégio Universitário, Rio de Janeiro, D. F.

(Com 17 figuras no texto)

Estudo, no presente trabalho, lepidópteros do gênero *Eacles* Hübner, 1819. Uma espécie nova (machos e fêmeas) e duas fêmeas não descritas, até então, designadas *alotipos* da respectiva espécie.

Este estudo quasi só foi possivel, com certeza, graças às fotografias obtidas dos tipos de *Eacles* no Museu de Washington, principalmente das espécies descritas por SCHAUS. Agradeço ao Dr. MUESEBECK, encarregado da Coleção de Insetos do referido Museu, o ter providenciado para que as referidas fotografias me fossem enviadas. Agradeço tambem ao meu amigo Dr. OTAVIO MARTINS cuja influência junto aos seus amigos na Embaixada Brasileira em Washington contribuiu de um modo decisivo na remessa das ditas fotografias. O Sr. P. M. FOX, por intermédio de meu amigo R. F. D'ALMEIDA, o conhecido entomologista brasileiro, muito se interessou tambem pelas fotografias e assim deixo-lhes aqui o meu agradecimento.

Nos estudos a seguir os números das côres são os do conhecido "Code Universel des Couleurs" de E. SÉGUY, 1936.

Eacles manuelita n. sp.

(Figs. 1-5, 7, 9)

Proveniência — Estado de Alagôas, Brasil, capturada por MANUEL (MANUELITO) OITICICA.

Holotipo, macho, n.º 145, da minha coleção. Exemplar único, macho. Preparações com o mesmo número, em tubos com creosoto, na minha coleção. *Alotipo*, fêmea, n.º 271, na minha coleção. Além do alotipo um paratipo fêmea na minha coleção.

DESCRIÇÃO DO HOLOTIPO

(Fig. 1)

Antenas — Antenas com a côr n.º 246 (terra ocre). *Flagelo* direito, com 19 segmentos quadripectinados e 22 segmentos simples. Cones sensitivos em

[1] Recebido para publicação a 16 de Abril de 1941.

todos os segmentos simples *exceto* o segmento apical, êstes cones não múltiplos em todos os segmentos.

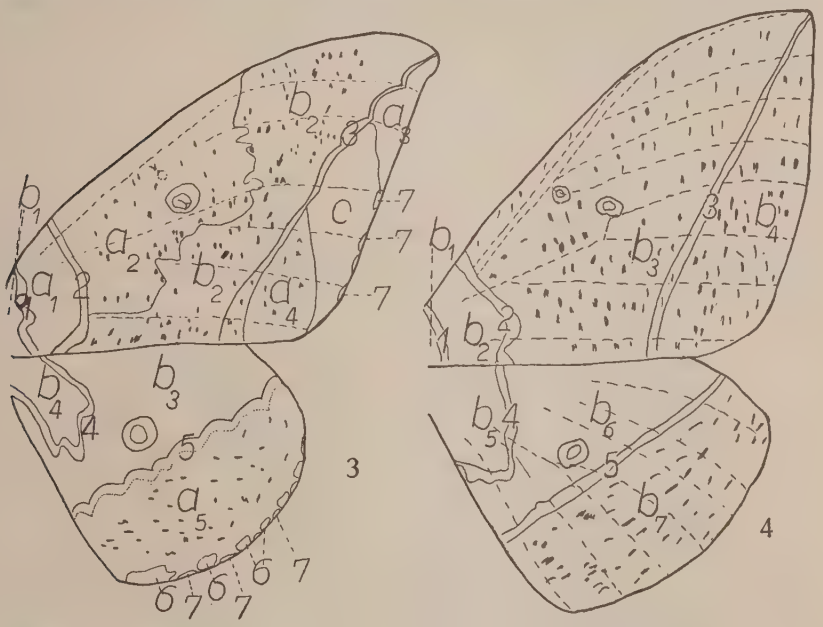
Palpos labiais com 3 segmentos bem distintos.

Região da cabeça côr 213 (ocre amarelo).

Eacles manuelita: Fig. 1 — Fotografia do holotipo macho, n. 145, esc. 1/1; fig. 2 — fotografia do alotipo fêmea, n. 271, esc. 1/1. M. Ventel fot.

Protorax côr amarela 213; *mesotorax* incluindo as tégulas com a mesma côr 213, exceto o centro que é de côr castanho 191 (folha morta) com duas manchas violáceas de côr 180, como em *E. penelope ducalis* Walker, 1855, separadas por uma linha fina côr 191; *metatorax* marcado por um risco de côr 191.

Asas anteriores um pouco falcadas. *Face superior das asas* como no esquema da fig. 3. Regiões a_1, a_2, a_3, a_4, a_5, côr castanho 191, esta côr mais escura em a_1 e a_3. Regiões b_1, b_2, b_3, b_4 côr amarela 213, a região b_2 tocando pelo bordo anal a estria 2. Região b_1 muito estreita, quasi um ponto. Região *c* violácea, côr 180. Estrias 1 e 2, quasi invisiveis, de côr um pouco mais escura que a 191 com uma linha central violácea 180. Estria 1 com um ponto branco, no meio. Estria 3 quasi indistinta, lunulada no ápice do bordo interno, com a côr mais escura que 146. Estria 4, côr 146, bem definida. Estria 5, mal definida, com quasi a mesma côr da região a_5, fortemente lunulada em toda a ex-

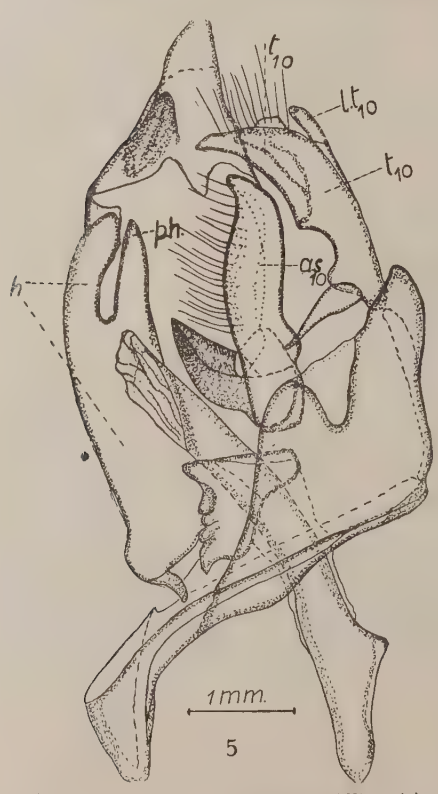


Eacles manuelita: Fig. 3 — Esquema da asa do macho; fig. 4 — esquema da asa da fêmea.

tensão. Manchas ocelares da asa anterior na região a_2, côr 191. Mancha ocelar menor quasi invisivel, mancha ocelar maior com o centro transparente (vítreo). Mancha ocelar única e na asa posterior com a mesma côr 191, e centro branco semi-transparente. *Salpicos*, de côr entre o castanho 111 e o "bistrefoncé" 116, nas regiões a_2, b_2, a_4, a_5. *Manchas* 6, nas asas posteriores de côr violácea 180. *Franjas* 7, nas asas anteriores e posteriores de côr amarela 213; muito estreitas. *Face inferior* das asas com a coloração amarela 213, sem as estrias 1, 2 e 4. *Asa anterior* com uma região de côr 213 formada pela reunião das regiões a_1, a_2, b_2. Estria 3 bem marcada e as regiões a_3, c, a_4, com as côres da face superior; a região a_4 com o bordo anal amarelo 213. *Asa posterior* com uma região amarela 213 formada pela fusão de b_4 e b_2. Estria 5 bem marcada, fina, côr 191. Região a_5 quasi toda amarela 213, um pouco escurecida para o bordo externo da asa. Manchas 6 bem nítidas e as franjas 7 tambem. Salpicos quasi inexistentes; alguns raros na região correspondente a região b_2 da face superior, para o ápice da asa e nas regiões correspondentes a a_5 e b_3. *Comprimento* máximo de cada asa anterior medida do torax ao ápice ao longo do bordo costal igual a 5,5 centímetros. Envergadura de ápice a ápice igual a 10,5 centímetros.

Pernas com os fêmures amarelos 213, tíbias e tarsos côr 191. Morfologia do tipo geral do gênero e os seguintes com as medidas de quadro abaixo, em milímetros, pernas do lado direito:

	P. anterior	*P. média*	*P. posterior*
Femur	6,77	7,79	6,85
Tíbia	5,95	5,63 $\begin{cases} e_1 = 0,8 \\ e_2 = 0,8 \end{cases}$	6,25 $\begin{cases} e_1 = 0,85 \\ e_2 = 1 \end{cases}$
Tarsômeros 1	2,5	3	3,6
2	1,13	1,35	1,5
3	0,95	1	1,25
4	0,85	0,85	1
5	1,45	1,45	1,5



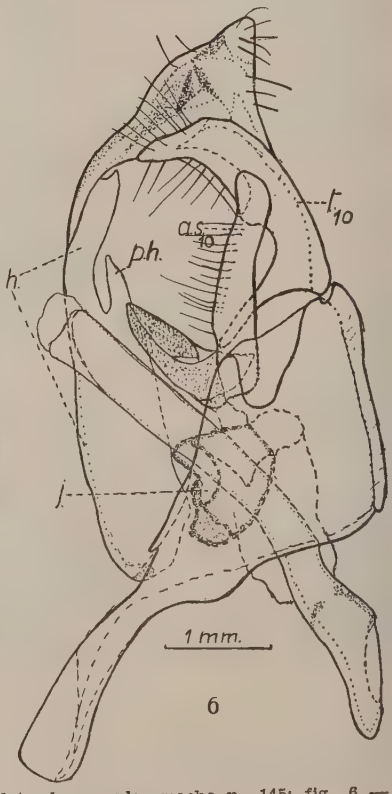


Fig. 5 — *Eacles manuelita*, genitália, vista lateral, exemplar macho n. 145; fig. 6 — *Eacles penelope ducalis*, genitália, vista lateral, exemplar macho n. 170.

Epífise da perna anterior com 3,5 mm. de comprimento, com a sua inserção a 1,4 mm. do bordo femural da tíbia. Esporões da tíbia abreviadas e_1 e e_2 no quadro.

Abdômen pela *face dorsal* com aneis largos de côr 191 [2], alternados com aneis estreitos amarelos 213. *Tergum* do segmento 8 côr 191 com franjas amarelas 219. *Face pleural* amarelo 213 com os estigmas respiratórios côr violácea 180. *Face ventral* amarelo 213, exceto o *sternum* 8 cuja côr é o castanho 191.

Genitália com o aspecto geral das genitálias do grupo de *E. penelope ducalis* Walker, 1855. A fig. 5 dá o aspecto geral da genitália do holotipo numa vista lateral. Apresenta particularidades que a diferenciam das espécies próximas na *harpa* (h) da valva, no apêndice (as_{10}) de *sternum* (10) e no *tergum* (t_{10}) do décimo segmento com o *lobo* ($l.t_1$). Este *tergum* termina em duas

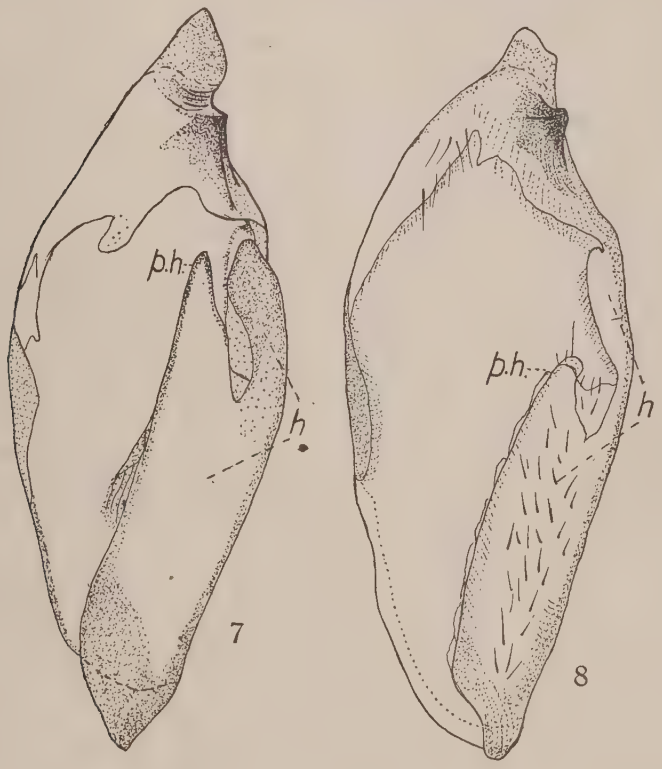


Fig. 7 — *Eacles manuelita*, valva esquerda, exemplar n. 145; fig. 8 — *Eacles penelope ducalis*, valva esquerda, exemplar n. 170.

pontas com o *lóbo* $l.t_{10}$ situado entre as duas. Na fig. 7, aspecto interno da valva esquerda, na qual aparece claramente o formato da harpa h.

---

[2] O abdomen está muito desbotado no holotipo e a côr 191 muito desmaiada, o que aparece claramente na fotografia do holotipo.

DESCRIÇÃO DO ALOTIPO
(Fig. 2)

Alotipo, fêmea, n.º 271 na minha coleção. Preparação com o mesmo número, em tubos com creosoto na minha coleção. Dois exemplares únicos na minha coleção, o *holotipo e um paratipo* com o n.º 327.

Proveniência a mesma do macho.

Antenas com a côr 246 (terra ocre). *Flagelo* direito com 40 segmentos simples (não pectinados). Os 17 primeiros a partir da base sem cones sensitivos, os 22 segmentos seguintes possuindo êstes cones, o segmento apical sem cone. A partir do ápice os segmentos 15 e 21 apresentam cones duplos. Os segmentos 22 e o terminal (apical) quasi fundidos, a marca de separação quasi invisivel.

Palpos labiais côr 126 (*palissandre*).

Região da cabeça côr 226 (amarelo-cádmio).

Protorax amarelo 226. *Mesotorax* incluindo as tégulas 226, com duas manchas violáceas 180 e centro branco, como no macho. *Metatorax* côr amarela 226.

Asas anteriores, como em geral nas fêmeas de *Eacles,* com os bordos externos bem convexos. *Face superior das asas* como no esquema da fig. 4. Região b_1, b_2, b_3, b_4, b_5, b_6, b_7 amarelos 226. Região b_1 muito estreita. Estrias castanha 126 (*palissandre*). Estria 1 mais ou menos nítida, as outras 2, 3, 4 e 5 bem nitidas. Estria 3 pouco lunulada, quasi reta; estria 5 mais lunulada e mais larga. Duas manchas ocelares na asa anterior, situadas na extremidade externa da célula, uma maior de côr 126 e centro branco e outra menor do lado costal da mesma côr e centro claro quasi indistinto. Uma mancha ocelar na asa posterior, de mesma côr 126 e uma outra branca bem nítida. Salpicos de côr 116 (pardo escuro), exceto nas regiões b_1, b_2, b_5, b_6. *Face inferior* das asas com a côr geral amarelo cádmio 226. Estrias 1, 2, 4 inexistentes. Estrias 2 e 5 mais nitidamente lunuladas. Salpicos muito escassos apenas nas regiões b_4, b_5, b_6, no bordo costal e na região b_7. Manchas ocelares como na face superior. *Comprimento* máximo da asa anterior, medida do torax ao ápice, ao longo do bordo costal igual a 7 *cm*. *Envergadura* de ápice a ápice das asas anteriores igual a *12,7 cm*.

Pernas com os fêmures amarelos 226, tíbias e tarsos castanho 126. Morfologia do tipo geral no grupo, tendo os tarsômeros 4, das pernas anteriores, a forma e os dois espinhos caracteristicos da fêmea (Vêr Oiticica Filho, 1940). Medidas dos diversos segmentos, em milímetros, pernas do lado direito, no quadro seguinte:

	P. anterior	*P. média*	*P. posterior*
Femur	7	8,15	7,58
Tíbia	5,5	6,15 $\begin{cases} e_1 = 0{,}75 \\ e_2 = 0{,}35 \end{cases}$	6,65 $\begin{cases} e_1 = 0{,}75 \\ e_2 = 0{,}8 \end{cases}$
Tarsômeros 1	2,65	3	3,35
2	1,35	1,4	1,5
3	0,92	1,1	1,3
4	0,8 (+ 0,2)	0,9	1
5	2.15	1.6	1.8

Epífise da perna anterior com 1,9 mm. de comprimento, com a sua inserção a 1,9 mm. do bordo femural da tíbia. Esporões das tíbias abreviadas e_1, e_2. O número 0,2 adicionado a 0,8 no tarsômero 4 da perna anterior é a medida do comprimento em milímetros, de cada espinha deste tarsômero feminino.

Abdômen pela face dorsal, como no macho, porem os aneis largos de côr 126 com formas triangulares alternados com aneis amarelos 226. Face pleural amarela 226 com os estigmas respiratórios de coloração violácea 180. Face ventral amarela 226.

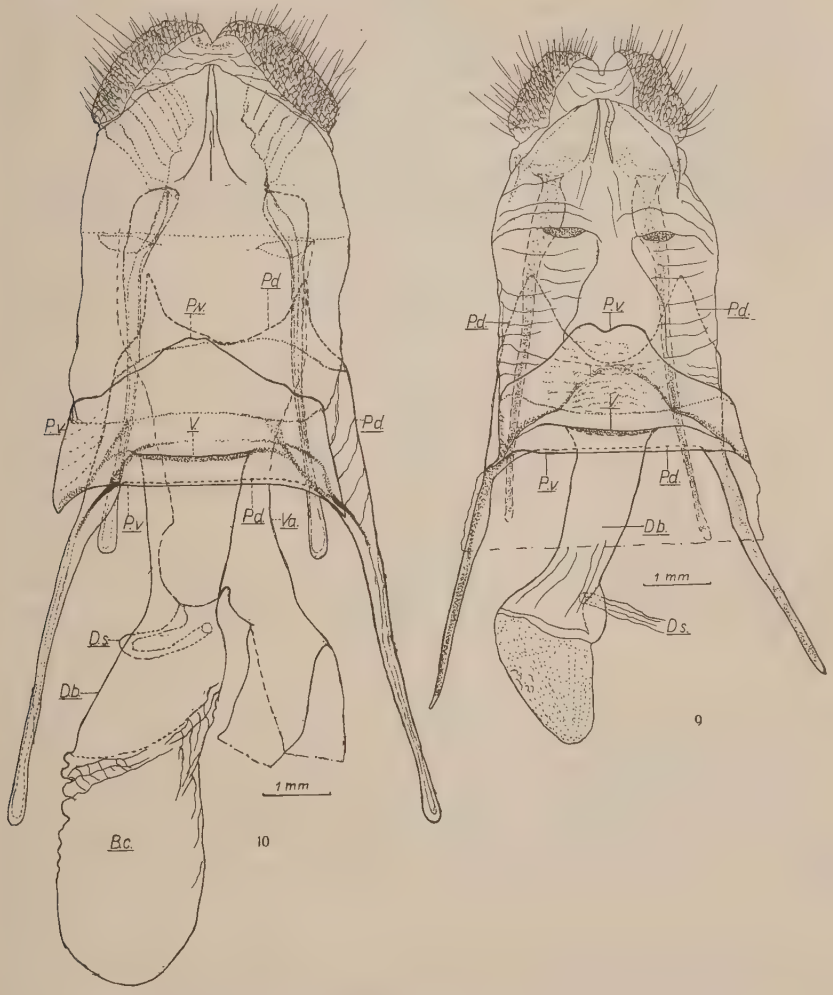


Fig. 9 — *Eacles manuelita*, genitália, vista ventral, exemplar fêmea n. 271; fig. 10 — *Eacles penelope ducalis*, genitália, vista ventral, exemplar fêmea n. 207.

Genitália (fig. 9) do tipo geral de *E. penelope ducalis* Walker, 1855. *Bursa copulatrix* ligada à vulva (*V.*) por um *ductus bursae* (*D. b.*) estreito e com cerca de 3 mm. de comprimento. *Signum* ausente na *bursa*. *Ductus seminalis* (D. s.) saindo do *ductus bursae* próximo da bursa. Vulva estreita, 1,4 mm. de

abertura. *Placa vulvar* (*P. v.*) com o aspecto da figura na qual aparece tambem o aspecto da *placa dorsal* (*P. d.*) com as suas duas pontas agudas caracteristicas do gênero. *Apófises anteriores* com cerca de 3,75 mm. de comprimento, presas como sempre à placa dorsal. *Apófises posteriores* longas em relação às anteriores com cerca de 5,5 mm., presas ao dorso da membrana do segmento 9 + 10.

DISCUSSÃO

Espécie próxima de *Eacles penelope ducalis* Walker, 1855. As diferenças entre os sexos, principalmente na morfologia dos orgãos genitais são grandes, de modo a justificar a creação da nova espécie. Nos quadros abaixo nos quais, resumo as principais diferenças específicas entre machos e fêmeas, a expressão, *"uma certa forma"*, indica uma forma definida na figura ou na fotografia indicada no quadro, a qual é preciso recorrer para se ter a noção da dita forma. No momento acho ser esta a maneira mais clara e simples de *definir* formas, que de outro modo seriam obscuramente ou dificilmente *definiveis*.

DIFERENÇAS ENTRE MACHOS

E. penelope ducalis	*E. manuelita*
Asas anteriores com uma certa forma, pouco falcadas no bordo externo.	Asas anteriores com forma diferente (figs. 1 e 3); mais falcadas no bordo externo.
Região a_5 não de côr única porém com uma faixa amarela; estria 5 nítida.	Região a_5 de côr única, não amarela, estria 5 mal definida, quasi se confundindo com a região a_5.
Mancha ocelar grande da asa anterior e a da asa posterior com o centro branco grande e bem nitido.	Mesmas manchas ocelares com o centro branco bem menor um pouco esbatido.
Harpa (h) com uma certa forma, (fig. 8), sua ponta curta, como na figura.	Harpa (h) com outra forma (fig. 7); sua ponta (p. h.) longa como na figura.
Sem lobo lt_{10} no décimo *tergum* (figura 6).	Com o lobo lt_{10} no décimo *tergum* (fig. 5).
Juxta (j) vista lateralmente com uma certa forma (fig. 6).	Juxta (j), vista na mesma posição com outra forma (fig. 5).

Estas as principais diferenças. Na genitália, além das diferenças apontadas outras aparecem nas figuras citadas.

DIFERENÇAS ENTRE FÊMEAS

As fêmeas, como quasi todas as fêmeas do gênero, pouco diferem entre si no aspecto externo, porém suas genitálias completamente diferentes como nos mostra o quadro abaixo e as figuras nêle indicadas:

E. penelope ducalis	*E. manuelita*
Mancha ocelar grande na asa anterior e a da asa posterior com centro branco grande e bem nítido como no macho.	Estas manchas ocelares com o centro branco bem menor e um pouco esbatidos, como no macho.
Placas vulvar (P. v.) e *dorsal* (P. d.) com uma certa forma (fig. 10).	Estas placas de forma diferente (fig. 9).
Conjunto *ductus bursae* e *bursa copulatrix* relativamente (*ao imago*) enorme, fig. 10, maior que em *E. majestalis* (fig. 17) cujo *imago* é muito maior que o de *ducalis*.	Êste conjunto, relativamente ao *imago*, muito menor (fig. 9).
Relação comprimentos apófise posterior sobre apófise anterior $\frac{\text{A. p.}}{\text{A. a.}}$ igual aproximadamente a 1.	Mesma relação aproximadamente igual a 1, 5.

Note-se o grande tamanho da genitália de *E. penelope ducalis* relativamente ao imago de envergadura 14 cm. Compare-se com a de *E. majestalis*, fig. 17, fêmea muito maior, de envergadura 17,5 centímetros.

E. Lauroi J. Oiticica Filho, 1938
(Figs. 11, 13-15)

Oiticica Filho, 25-1-1938, Folha Médica, pgs. 34-35.
Oiticica Filho, 1938, Mem. Inst. Oswaldo Cruz, pgs. 281-290, est. 1-9.

Estudo e descrevo aqui a fêmea de *Eacles lauroi* Oiticica F. 1938.

Alotipo n.º 152 na minha coleção e na mesma 3 paratipos. Preparações com o mesmo número em tubos com creosoto, na minha coleção.

Proveniência — Campos do Jordão, Estado de S. Paulo, Brasil. Capturados por Oiticica Filho e Travassos.

DESCRIÇÃO DO ALOTIPO
(Fig. 11)

Antenas com a côr 246 (terra ocre). Flagelo direito com 37 segmentos simples (não pectinados). Os 15 primeiros a partir da base sem cones sensitivos. Os 21 seguintes com cones sensitivos, mas o segmento apical sem cone. A partir do ápice os cones sensitivos distribuem-se do seguinte modo: cones duplos nos segmentos 5, 6, 9, 12, 20; cones triplos nos segmentos 10, 11, 14, 15, 16, 17; cones quádruplos nos segmentos 7, 8, 18, 19; cones quíntuplos no segmento 13. Os 6 segmentos restantes possuem cones simples.

Palpos labiais com 2 *segmentos* distintos, *como no macho* e com o aspecto da fig. 14.

Região da cabeça amarelo cádmio 226.

Protorax amarelo 226. *Mesotorax* amarelo cádmio com duas manchas centrais com a côr violácea 87. *Metatorax* amarelo cádmio 226.

Asas anteriores com os bordos externos convexos. *Face superior das asas* como no esquema da fig. 13. Regiões b_1, b_2, b_3, b_4, b_5, b_6 amarelas 226. Estrias violáceas 87. A côr da estria 2 invade o bordo costal numa linha fina, da base até aos ocelos. Estria 4 muito reduzida. Estria 3 sem lúnulas, estria 5 com lúnulas irregulares do bordo externo até a sua metade. Duas manchas ocelares desiguais na asa anterior com a côr violácea 87 e grande centro branco. No alotipo manchas ocelares *juntas*, a menor para o bordo costal. Uma mancha ocelar na asa posterior, como as da anterior, de diametro compreendido entre os destas duas manchas ocelares. Salpicos castanhos 141, nas regiões b_2, b_3, e b_6. *Face inferior das asas* com a côr geral amarelo 226. Estrias 2 e 4 inexistentes. Estrias 3 e 5 bem nítidas e lunuladas, lúnulas da estria 3, suaves. Salpicos escassos nas regiões b_2 (no ápice apenas), b_3 (uns 3 ou 4), $b_4 + b_5$ (no bordo costal), b_6. Manchas ocelares como na parte superior, com a corôa de um violáceo mais escuro, n.º 87 do Código. Comprimento, máximo, da asa anterior, medido do torax ao ápice, ao longo do bordo costal igual a *5,2* centímetros. Envergadura de ápice a ápice, igual a *10,3* centímetros.

Pernas com os fêmures amarelos 226 tíbias e tarsos violáceos 87. Morfologia do tipo geral, tendo os tarsômeros 4, das pernas anteriores, a forma e os dois espinhos característicos dos da fêmea. (Vêr OITICICA FILHO, 1940). Medidas dos diversos segmentos, em milímetros, pernas do lado direito, no quadro seguinte:

	P. anterior	*P. média*	*P. posterior*
Femur	5,95	6,4	5,35
Tíbia	4,65	4,95 ($e_1 = 0,55$; $e_2 = 0,7$)	5,9 ($e_1 = 0,65$; $e_2 = 0,7$)
Tarsômeros 1	2,55	2,45	2,63
2	1,3	1,35	1,55
3	0,9	1,1	1,25
4	0,7 (+ 0,2)	0,9	1,1
5	1,6	0,6	1,75

Epífise da perna anterior com *1,55 mm.* de comprimento, terminada em ponta bem definida e quitinizada, inserida a *1,55 mm.* do bordo femural da tíbia. O número 0,2 adicionado a 0,7, no tarsômero 4 da perna anterior, é a medida do comprimento em milímetros, de cada espinho neste tarsômero.

Fig. 11 — *Eacles laurci*: Fotografia do alotipo fêmea, esc. 1/1.

Abdômen pela face dorsal amarelo cádmio 226 com manchas violáceas 87. Face pleural amarela 226 com os estigmas respiratórios violáceos 87. Face ventral amarela 226 com 2 manchas, violáceas 87, laterais, em cada segmento.

Genitália (fig. 15) com o tipo geral das genitálias do gênero de *E. magnifica* Walker, 1855. *Bursa copulatrix* (*B. c.*) ligada à vulva (*V.*) por um *ductus bursae* (*D. B.*) largo e curto com cerca de 1,2 milímetros. *Ductus bursae* fortemente quitinizado até mais de sua metade, como aparece na figura. *Signum* ausente, na *bursa*. *Ductus seminalis* (*D. s.*) saindo do *ductus bursae* próximo da *bursa*, talvez na junção da *bursa* com o *ductus bursae*. *Vulva* larga, com uma abertura média de aproximadamente 2 milímetros, abertura que ocupa quasi toda a largura da *placa vulvar* (*P. v.*). *Placa vulvar* com o aspecto da figura, na qual aparece tambem o aspecto da *placa dorsal* (*P. d.*). *Apófises anteriores* da placa dorsal, com cerca de *2,8 mm*. *Apófises posteriores* com cerca de *3,3 mm.*, presas, como sempre, ao dorso da membrana do segmento 9 + 10.

Variações — A única variação interessante, que aparece nos paratipos, está nas manchas ocelares da asa anterior. Estas manchas podem ser *tangentes* como no alotipo ou separadas. No mais, externamente, variações de somenos importância.

E. majestalis Draudt, 1930

(Figs. 12, 16, 17)

Draudt, 1930, in Seitz, Grosschmett. d. Erde, 6, 802, t. 133 b, ♂. Bouvier, 1931, Mem. Acad. Sc. Inst. France, 60 (2), p. 135, ♂. Schüssler, 1936, Lepidopt. Catalogus, Pars 70, Syssphingidae, p. 174.

A fêmea de *E. majestalis* Draudt, 1930, sendo desconhecida na literatura entomológica, é aqui por mim estudada. Escolho o exemplar n. 289 na minha coleção para o *alotipo* da espécie em questão.

Alotipo, fêmea, n.º 289 na minha coleção. Preparações com o mesmo número, em tubos com creosoto na mesma coleção. Dois outros exemplares, um, na

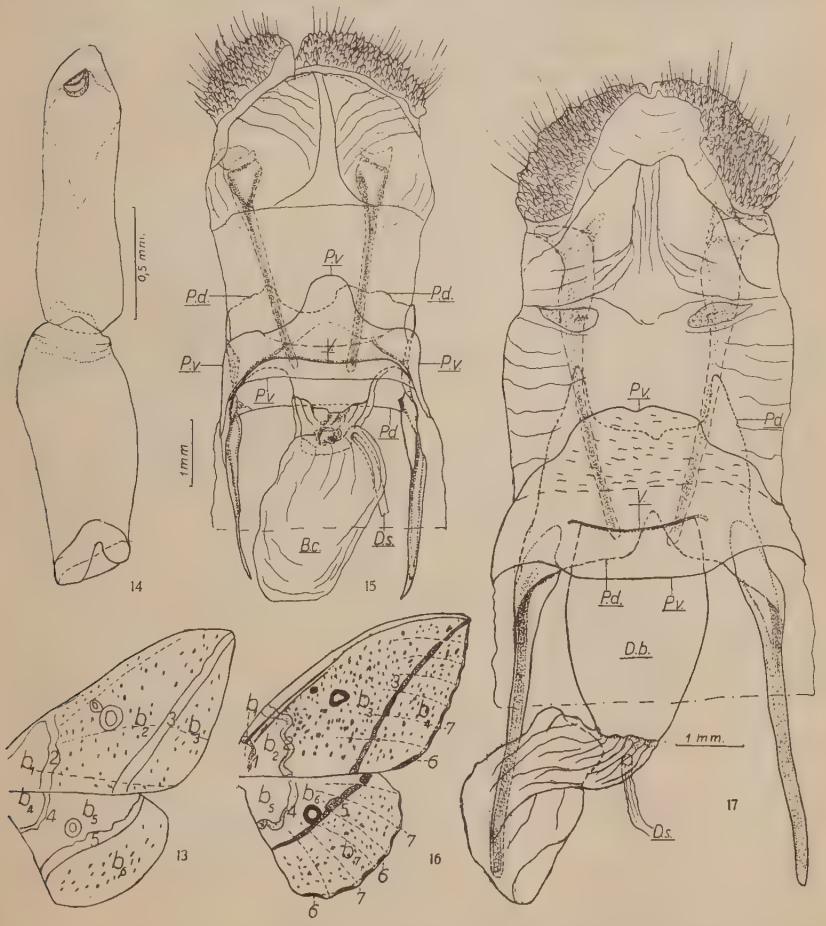
Fig. 12 — *Eacles majestalis*: Fotografia do alotipo fêmea, esc. 1/1.

minha coleção e outro na do Museu Paulista. (Vêr *discussão* da fêmea no fim do presente estudo).

Proveniência — O alotipo proveniente de Terezópolis, Est. do Rio, Brasil. Capturado pelo autor e sua presença indicado por um macho, atraído pela fêmea alotipo. Outro exemplar de Petrópolis, (Meio da Serra), E. do Rio, Brasil. capturado por A. Parko, e outro de Manaus, Amazonas, Brasil, sob o n.º 50.299 na coleção do Museu Paulista.

DESCRIÇÃO DO ALOTIPO
(Fig. 12)

Antenas com a côr 246 (terra ocre). Flagelo direito com 44 segmentos não pectinados. 21 segmentos sem cones sensitivos, os dois basais quasi fundidos num único, porém com uma divisão bem nítida. Segmentos com cones sensitivos em número de 23. Segmento apical com 3 cones sensitivos seguidos, talvez



Eacles lauroi: Fig. 13 — Esquema da asa da fêmea; fig. 14 — talpo labial da fêmea, alotipo n. 152; fig. 15 — genitália da fêmea, alotipo n. 152, vista ventral. *Eacles majestalis*: Fig. 16 — Esquema da asa da fêmea; fig. 17 — genitália, vista ventral, do alotipo fêmea n. 289.

3 segmentos fundidos, porém contados como um único segmento. Segmentos 14 e 23, a partir do ápice, com cones duplos. Os outros cones simples.

Palpos labiais com a côr violácea 86.

Região da cabeça amarelo 211 (amarelo neutro).

Protorax amarelo 211 com 2 manchas laterais e uma central com a côr castanha 41, do Código. *Mesotorax*, incluindo os *tégulas* com a côr amarela 211 e com duas manchas elípticas com a côr castanha avermelhada n.º 42, cada mancha tendo um ponto interno claro. *Metatorax* amarelo 211.

Asas anteriores com o bordo externo mais convexo que no macho. *Face superior das asas* como no esquema (fig. 16). Regiões b_1, b_2, b_3, b_4, b_5, b_6, b_7, amarelas, côr 211. Região b_1 muito estreita. Região b_6 diminuida por estar a estria 5 bem afastada do bordo externo da asa posterior. Estrias 1, 2, 3 com a côr castanho 41. Estrias 4 e 5 com a côr castanho avermelhada n.º 42. Estria 1 pouco nítida. Estrias 3 e 5 sem lúnulas. Duas manchas ocelares na asa anterior, uma grande e outra pequena para o bordo costal. A maior com uma corôa quasi negra, sépia 681 do Código e o centro largo e transparente (vítreo); a menor reduzida a um ponto sépia 681, sem centro claro. Uma mancha ocelar na asa posterior, cuja corôa sépia 681 toca a estria 5; seu centro tambem grande é transparente (vítreo). Salpicos grandes e difusos, côr 116 (pardo escuro) nas regiões b_3, b_4, e b_7. Bordos externos das anteriores e posteriores com *franjas* 6 e 7 bem nítidas, as franjas 6 escuras, sépia 681 e as franjas 7 amarelas 211. *Face inferior* das asas com a côr geral amarela, porém mais clara, amarelo cádmio 226 no qual aparece um tom róseo. Estrias 1, 2 e 4 inexistentes. Estria 3, bem lunulada em todo o seu comprimento, com uma côr mais clara que na face superior, castanho avermelhado n.º 42 e mais larga que na face superior. Estria 5, de côr 42, bem mais larga que na face superior e com lúnulas pouco nítidas. Ocelos como na face superior, o ocelo pequeno da asa anterior quasi invisivel. Salpicos nas regiões b_3 (na parte apical), b_4, $b_5 + b_6$ e b_7. Franjas como na face superior. *Comprimento* máximo da asa anterior, medida do torax ao ápice, ao longo do bordo costal igual a 9 centímetros. *Envergadura* de ápice a ápice, das anteriores, igual a *17,5 centímetros*.

Pernas com os fêmures amarelos 211, tíbias e tarsos violáceos, côr 86 do Código. Morfologia do tipo geral, no grupo, tendo os tarsômeros 4, das pernas anteriores, a forma e os dois espinhos característicos da fêmea. (Vêr Oiticica Filho, 1940). Medidas dos diversos segmentos, em milímetros, pernas do lado direito, no quadro seguinte:

	P. anterior	*P. média*	*P. posterior*
Femur	8,15	9,8	9,15
Tíbia	6,1	7,15 $\begin{cases} e_1 = 0,3 \\ e_2 = 0,55 \end{cases}$	8,7 $\begin{cases} e_1 = 7 \\ e_2 = 7,5 \end{cases}$
Tarsômeros 1	3,4	3,5	4,4
2	1,5	1,6	1,75
3	1,15	1,5	1,4
4	0,8 (+ 0,25)	1	1,15
5	2,7	2,05	2,1

Epífise da perna anterior com 1,8 mm. de comprimento, com sua inserção a 2,3 mm. do bordo femural da tíbia. Esporões das tíbias abreviadas e_1 e e_2. Os esporões e_1 e e_2 da tíbia da perna média atrofiados; e_1 quasi invisivel, confundindo-se com a membrana que liga a tíbia com o tarsômero 1. O número 0,25, adicionado ao número 0,8, do tarsômero 4 da perna anterior, é a medida em milímetros de cada espinho deste tarsômero feminino.

Abdômen pela face dorsal amarelo 211, os segmentos 4, 5, 6 e 7, com 2 manchas centrais e basais, cada um, manchas coloridas com o castanho avermelhado 42. Face pleural amarela 226 com os estigmas respiratórios violáceos e umas manchas da mesma côr na parte basal de cada segmento a partir do quarto. Face ventral amarela 226 em todos os segmentos.

Genitália (fig. 17) do tipo geral do grupo de *E. penelope ducalis* Walker, 1855. *Bursa copulatrix* ligada à *vulva* (*v.*) por um *ductus bursae* longo e uns 3,7 mm. e relativamente estreito. *Signum* ausente. *Ductus seminalis* (*D.s*) saindo do *ductus bursae* próximo da *bursa*, talvez no limite de separação do *ductus* com a *bursa*. Vulva estreita, com cerca de *1,7 mm.* de abertura. *Placa vulvar* (*P.v.*) com o aspecto da figura, na qual aparece tambem o aspecto da *placa dorsal* (*P.d.*) com as suas duas pontas agudas caracteristicas do grupo; *placa dorsal* relativamente estreita e com as *apófises anteriores* com cerca de 5 mm. *Apófises posteriores* aproximadamente com o mesmo comprimento das anteriores.

DISCUSSÃO

Acha-se na minha coleção um outro exemplar, capturado em Petrópolis. Este, infelizmente, está com o abdômen comido por formigas e nada se salvou da genitália. Difere do alotipo em certos pontos que passo a enumerar. Tamanho menor, amarelo mais claro, desenhos mais esbatidos. Estrias 3 e 5 bem mais estreitas que no alotipo. Acha-se comigo, para estudo, um outro exemplar do Museu Paulista proveniente de Manaus, Amazonas, Brasil, em tudo semelhante ao alotipo aqui do Rio. O exemplar do Museu Paulista acha-se em muito mal estado de conservação. Pude entretanto examinar a genitália e a bôa preparação que obtive, conservada em creosoto, será devolvida juntamente com o exemplar, ao dito Museu. Esta genitália é sob todos os aspectos igual a do *alotipo* aqui do Rio. Mesmo tipo do *ductus bursae*, afinando para o lado da *bursa*, com esta desviada para o lado, como na figura da genitália do alotipo (fig. 17). Forma das placas *vulvar* e dorsal *quasi* idênticas. Esta quasi identidade entre exemplares fêmeas e entre machos, tambem por mim examinados, de localidades tão diversas, mostra que *E. majestalis* Draudt, 1930, é uma espécie que vôa na Colombia, Amazonas, Rio até Santa Catarina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

OITICICA FILHO, J., 1940, Estudo sobre pernas de *Adelocephalidae*. *Papeis Avulsos Dep. Zool., S. Paulo, Brasil*, pp. 17-38, est. 1-15.

SEGUY, E., 1936, Code Universel des Couleurs.

Rev. Brasil. Biol., 1 (2): 145-154
Junho, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

INFLUÊNCIA DO OXIGÊNIO SOB PRESSÃO SOBRE O "CLOSTRIDIUM WELCHII" [1]

GENESIO PACHECO e GOBERT ARAUJO COSTA
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

(Com 1 gráfico)

Ainda ha que investigar na influência do oxigênio sobre as bactérias anaeróbias.

Até agora têm-se restringido os estudos da ação do O^2 sobre anaeróbios quasi exclusivamente ao oxigênio do ar ou O^2 puro. Oxigênio sob pressão foi ensaiado somente sobre esporos. Procuramos utilizá-lo sobre viabilidade e esporogenese do *Clostridium Welchii*.

TÉCNICA

Empregamos para numeração das bactérias a serem ensaiadas diluições crescentes de 10^{-1} a 10^{-8} de culturas de *Clostridium Welchii* em caldo de TAROZZI, incubadas durante 24 horas a 37°. Contagens prévias eram feitas com a cultura diluida em agua fisiológica, passando-se 1 cc. de cada diluição em placas de agar, fundido e resfriado a $\pm$ 42°, antes de submeter ao O^2. Repetiam-se as contagens depois de atuar O^2 sob pressão ou em presença do ar, em comparação com culturas testemunhas, conservadas como de ordinário.

Em seguida à contagem inicial, 3 cc. de cultura eram passados para tubos de ensaio de 2 cm. de diâmetro, esterilizados com rolha de algodão bastante frouxa para facilitar a passagem do gás, em seguida colocados na câmara de compressão, descrita em outro trabalho.

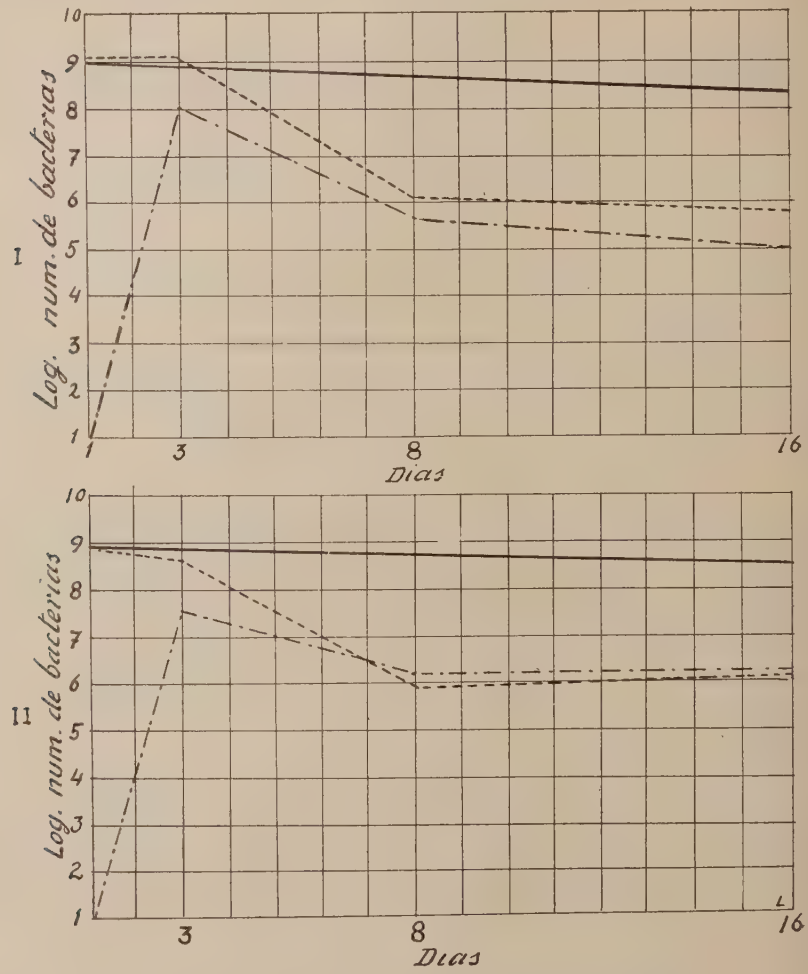
Mostram os resultados do quadro I consideravel redução na viabilidade bacteriana em presença do oxigênio sob pressão. Em 3 dias de exposição ao O^2 a quasi totalidade das bactérias havia morrido, enquanto na cultura testemunha, em caldo TAROZZI, houve apenas 64,8 por cento de bactérias mortas durante 16 dias de conservação nas condições ordinárias.

FORMAÇÃO DE ESPOROS

Ao mesmo tempo que computávamos o número de bactérias sobreviventes nas culturas procuramos examinar a esporulação das culturas sob ação do oxi-

[1] Recebido para publicação a 28 de Abril de 1941.
Trabalho da Seção de Estudos das Infecções Anaeróbias, anexa à Seção de Cancerologia da Fundação Gaffrée & Guinle.

gênio. Havia duplo interesse nesse exame: *a*) serviria para comprovar a observação em trabalho anterior, de que a exposição ao O^2 é fator favoravel à esporulação do *Cl. Welchii; b*) mostraria ser o pequeno número de bactérias restantes constituido de formas esporuladas. Para essa verificação aqueciamos a cultura, depois da exposição do oxigênio, à temperatura de 80° em banho-maria durante 20 a 30 m., procedendo do mesmo modo com a cultura testemunha; em seguida faziamos a contagem por diluições misturadas ao agar fundido e resfriado.



I *Cl. Welchii (Cl ii) exposto ao ar atmosferico*

II " " " " " *ao* O^2 *3 atmosferas*

Resultou da experiência a quasi concordância de resultados das contagens entre os quadros I e II, com a ressalva da 1.ª contagem, com 3 dias, em que no quadro I houve diferença de percentual devido talvez à existência de formas pre-esporuladas (*oidium de Bredemann*), adeante referidas. Na cultura testemunha não houve formação de espóros pois as culturas das diluições submetidas ao aquecimento resultaram estéreis. Nas contagens seguintes o número de esporos foi menor, indicando provavelmente certa sensibilidade ao oxigênio dos esporos recemformados.

Pode-se apreciar no gráfico a curva de morte e a de esporulação, onde se vê que houve morte mais rápida na cultura exposta ao oxigênio que ao ar atmosférico. Nas culturas testemunhas não tendo havido esporulação, não houve representação na curva.

A experiência referida no quadro I foi repetida com número maior de amostras e está sumariada no quadro III. Ensaiamos desta vez 5 amostras de *Clostridium Welchii*.

Submetidas a 3 atmosferas de O^2 durante 8 dias observou-se com 3 dias redução de quasi 100 % das formas viaveis; na amostra 7, uma das contagens foi perdida e da amostra 8 resistiram à oxigenação 54,4 % das bactérias naquele prazo de tempo. Com 16 dias de exposição ao O^2 todas amostras apresentavam quasi 100 % de formas mortas. Nos dois casos, com 8 e com 17 dias de exposição, a presença de esporos foi assinalada nos esfregaços, mostrando serem êles os responsaveis pelas formas sobreviventes, vistas anteriormente, na prova de esporulação. Nas culturas testemunhas, em caldo Tarozzi, recobertas de vaselina sólida e conservadas nas condições ordinárias, não houve desta vez nenhuma redução, como observamos com a cultura testemunha do quadro I. Com 8 dias houve até aumento de número de bactérias, indicativo de crescimento lento das bactérias semeadas. Ao cabo de 17 dias houve redução mas somente com relação ao número encontrado com 8 dias de cultura, ainda assim superior ao número primitivo, da contagem obtida da cultura de 24 horas submetida à oxigenação.

DISCUSSÃO

Realmente não são tão simples como parecem as relações do oxigênio com as bactérias anaeróbias. Desde os primeiros tempos da bacteriologia se soube de bactérias que vegetam sem a presença do oxigênio do ar.

Deduziu Pasteur sua existência trabalhando com *Clostridium butyricum* e verificando a existência de vegetação associada do anaeróbio com um germe aeróbio, funcionando este como aceptor de oxigênio em meios de cultura líquidos.

Depois dêle Lüderitz consegue isolar anaeróbios em meio sólido, a custa de substâncias gelificantes, portanto a coberto da presença do

ar, empregando pela primeira vez a expressão hoje corrente em terminologia bacteriológica "camada alta" (hoher Schick, hoher Cultur), pela mesma técnica ainda atualmente usada, com a modificação do tubo fino e longo proposta por Veillon, conhecida por "Tubo Veillon", que permite mais facil separação das colônias depois de crescidas pela ruptura do tubo ao nivel da colônia desenvolvida e isolada na massa do meio.

Em experiências com vários anaeróbios do solo Chudiakow verificou que o oxigênio do ar, atuando por 1 hora, em comparação com culturas gêmeas, não esporuladas, protegidas do ar, provocava pequena redução na vitalidade das bactérias e que com 4 horas de contato o número de germes viaveis da cultura era consideravelmente menor que na cultura testemunha: em 15 horas de contato o oxigênio do ar tornava a cultura completamente estéril. Outro tanto não sucedia aos esporos, os quais mostraram grande resistência à presença do ar. A-pesar-disto êstes sofreram tambem na sua vitalidade, pois culturas obtidas com a vegetação desses esporos expostos ao ar durante meses foram menos ativas na sua capacidade fermentativa que culturas da mesma idade conservadas sob proteção do ar. Influiu ainda nessa atenuação de atividade o grau de temperatura da experiência.

Refere tambem Smidt influência favoravel à esporogênese pelo oxigênio atmosférico borbulhado nas culturas, em comparação com culturas não arejadas.

Bachmann investiga tambem a interferência do O^2 sobre anaeróbios. Sob ação do ar observou esporulação em 24 horas, tornada abundante em 48 horas. Suas experiências são realizadas com anaeróbios da natureza, que então descreve, principalmente o *Paraplectum foetidum,* com o qual observou redução de 475 para 0 colônias nas culturas em placa submetidas a 10-30 mm. Hg de ar; resultados análogos encontrou com *Clostridium botulinus* e com *Cl. amylobacter.*

Refere Zeissler a tolerância ao oxigênio do ar dos anaeróbios patogênicos:

Germem	*Pressão de ar em mm. Hg.*	*Presença do ar*
Clostridium Welchii	40	—
Cl. oedematis-maligni	15 até 8	10 horas
Cl. chauvoei	10 até 5	10 horas
Cl. histolyticus	8 até 3	10 horas
Cl. sporogenes	25 até 5	24 horas
Cl. tertius	quasi insensivel	cresce
Cl. cochlearius	5	—
Cl. tetani	15 até 3	10 horas
Cl. botulinus	8 até 3	10 e mais horas

Dessa relação se depreende ser o *Cl. cochlearius* o anaeróbio mais sensivel ao O^2, seguindo-se-lhe o *botulinus,* o *histolyticus* e o *tetani.*

QUASTEL & STEPHENSON examinam a influência do O^2 puro atuando durante 6 horas consecutivas sobre *Clostridium sporogenes* em meio cisteinado ou não, tendo ficado comprometida a vitalidade da bactéria somente no meio sem cisteina, parecendo que esta protege a célula da bactéria anaeróbia. Não esclareceram, entretanto, si as culturas com que trabalharam eram esporuladas.

Resultaria das referências acima ser o O^2 lesivo às células bacterianas. Mas FERMI & BASSU encontram vantajosa pequena quantidade de O^2 no substrato nutritivo para o crescimento bacteriano anaeróbio, sendo desfavoravel ao desenvolvimento a anaerobiose absoluta. Acharam até melhorado o crescimento com a introdução de pequena quantidade de O^2 na câmara de cultura durante o crescimento anaeróbio. De ordinário sua presença impede o crescimento e mata as bactérias anaeróbias já desenvolvidas. Neste caso estas se defendem promovendo a esporulação que as tornam resistentes ao O^2, mesmo em pressões de 8 atmosferas durante 6 meses, ou de 20 atmosferas durante 15 semanas, como observou BREDEMANN com *Cl. butyricum*.

Nós aplicamos O^2 puro em pressões de 3 atmosferas diretamente sobre culturas de *Clostridium Welchii* adultas e obtivemos redução total do número de bactérias, isto é, O^2 exerceu ação bactericida evidente. A não ser com a amostra 10, na qual após 8 dias apenas morreram pouco mais de 50 % dos germes, nas demais culturas expostas ao O^2 sob pressão morreram todos os germes nesse espaço de tempo.

Mais resistentes à ação do O^2 se revelaram os esporos, seja na formação seja na vegetação. Sofreram êstes entretanto a influência do O^2, tal qual observara CHUDIAKOW, reduzindo-se seu número com o prolongamento do tempo de exposição ao O^2 mais do que ao ar atmosférico, como se vê no quadro II.

Esta questão da esporulação fôra já estudada por SMIDT para o *Cl. sporogenes*. Determinou ele previamente a concentração iônica, temperatura, riqueza nutritiva e composição do meio de cultura utilizado nas experiências. Ficou bem evidenciado de suas experiências que o esgotamento dos elementos nutritivos do meio de cultura era fato preponderante na esporulação, fazendo aumentar até de 70 % o percentual de esporulação com o consumo do material nutritivo e consequente empobrecimento do meio.

Mas a presença de O^2, introduzido no ambiente da cultura anaeróbia, fez aumentar nitidamente o número de esporos das culturas adultas. Foi isto exatamente verificado por nós com o *Cl. Welchii*, para o qual podemos afirmar ser o O^2 agente esporogênico evidente. Realmente, com 3 dias de exposição ao oxigênio mais de 7 % das bactérias das culturas estavam esporuladas; com o tempo de exposição esse percentual foi caindo, talvez porque as formas esporuladas não chegaram a se constituir completamente e se tornaram por isso sensiveis ao O^2 continuando a atuar sobre elas; muitas destas formas de esporos eram formas pre-esporuladas, em "oidium", assinaladas nos exames microscópicos e descritos por BREDEMANN.

Bredemann submete anaeróbios sob influência do O^2 a demorada análise. Aplicando a fórmula de Mayer para dosagem do O^2 nas misturas gazosas, procura determinar a tensão do O^2 influente na formação e na germinação dos esporos do *Clostridium butyricum*. Apura que a germinação dos esporos se faz com 33 mg. de O^2 por litro, podendo este teor baixar até 20 mg.

Não ha dúvida: em nossas verificações mostra-se o O^2 lesivo às bactérias anaeróbias. Esta influência se extende claramente nas nossas verificações ao *Clostridium Welchii,* considerado pouco exigente neste particular por muitos bacteriologistas que o têm examinado neste sentido e procurado, à vista disto, fixar condições de meio e de temperatura mais favoraveis à esporulação.

Para formação de esporos as exigências são menores. Verificou Bredemann para o *Cl. amylobacter* que com 20 mg. ela se faz abundantemente mas formam-se esporos em presença de quantidades muito menores de O^2, havendo esporulação mesmo na ausência absoluta ou com pequenos traços de oxigênio, condições entretanto em que a germinação dos esporos não se dava absolutamente, a-pesar-de prolongar a observação por muitos dias. Nas duas espécies bacterianas estudadas por Bredemann houve grandes diferenças nas exigências de O^2 para esporulação e esporogerminação, tendo-se mostrado o *Cl. butyricum* muito menos exigente que o *Cl. asterosporus*.

Nossas verificações foram diferentes das dos pesquisadores precedentes porque procuramos estudar o efeito de O^2 sobre a viabilidade. Parece evidente a morte da maioria dos elementos das culturas expostas ao O^2 sob pressão, resistindo apenas os esporos, posto que tambem estes sofram na sua vitalidade com o prolongamento da exposição ao O^2, porque morre certo número com o correr dos dias.

De outro lado o O^2 favoreceu nitidamente a esporogênese do *Cl. Welchii*.

RESUMO

1) O^2 sob pressão e ar atmosférico determinaram a morte quasi total das culturas de *Clostridium Welchii* em tempo relativamente curto.
2) Resistiram nas culturas submetidas ao O^2 sob pressão e ao ar atmosférico as formas esporuladas.
3) O^2 sob pressão e ar atmosférico favoreceram e facilitaram nitidamente a esporogênese do *Clostridium Welchii*.

SUMMARY

1) O^2 under pressure and atmospheric air conditions determined the almost total extinction of *Clostridium Welchii* cultures in a relatively short time.
2) The sporulated forms were the only ones which survived after the cultures were submitted to O^2 under pressure and atmospheric air conditions.
3) O^2 under pressure and atmospheric air conditions definitely favoured and facilitated sporogenesis of *Clostridium Welchii*.

QUADRO I

CLOSTRIDIUM WELCHII SOB AÇÃO DE:

Amostra Welchii	*N.º de Bactérias p/mm3 na cultura original*	a) EM 0^2 (3 ATMOSFÉRAS)									Culturas testemunhas		
		N.º de Bactérias p/mm3 c/3 dias	*Percentagem de redução*	*Exame microscópico da cultura em esfregaço*	*N.º de Bactérias p/mm3 c/8 dias*	*Percentagem de redução*	*Exame microscópico da cultura em esfregaço*	*N.º de Bactérias p/mm3 c/16 dias*	*Percentagem de redução*	*Exame microscópico da cultura em esfregaço*	*N.º de Bactérias p/mm3 c/16 dias*	*Percentagem de redução*	*Exame microscópico da cultura em esfregaço*
Cl. 11	942.500.000	636.200.000	33	Formas degeneradas, corpo granuloso, mal corado em vermelho, com granulações vermelhas. Algumas formas apresentam restos corados em violeta. Numerosos esporos. Morfologia alterada: afiladas ou em massa. Gram positivos.	800.000	99,92	Numerosas formas degeneradas, corpo granuloso, retendo mal o Gram. Esporos frequentes e numerosos.	1.900.000	99,80	Numerosos esporos. Ausência de formas bacilares.			
		b) EM AR ATMOSFÉRICO (PRESSÃO NORMAL)									332.600.000	64,8	Ausência de esporos. Numerosas formas bacilares, Gram positivas
Cl. 11	942.500.000	950.400.000	0	Formas finas, alongadas. Gram positivas e negativas, estas predominando em certos pontos. Numerosas formas pre-esporuladas. Esporos relativamente frequentes.	1.600.000	99,83	Numerosos esporos. Ausência de formas bacilares.	567.000	99,94	Numerosos esporos. Ausência de formas bacilares.			

QUADRO II

FORMAÇÃO DE ESPOROS

Amostra Welchii	N.º de Bactérias p/mm3 na cultura original	a) *em 0^2 (3 atmosféras)*						Testemunhas n.º de esporos com 16 dias
		N.º de esporos p/mm3 com 3 dias	Percentagem de esporulação	N.º de esporos p/mm3 com 8 dias	Percentagem de esporulação	N.º de Bactérias p/mm3 com 16 dias	Percentagem de esporulação	
Cl. 11	942.500.000	70.000.000	7,42	1.600.000	0,16	2.000.000	0,21	
		b) *em ar atmosférico*						Não houve crescimento (ausência de esporos)
Cl. 11	942.500.000	101.800.000	0,10	700.000	0,07	190.000	0,02	

QUADRO III

CLOSTRIDIUM WELCHII EM 0º SOB PRESSÃO DE 3 ATMOSFÉRAS

Amostra Welchii	*Bactérias p/mm3 na cultura original*	Após 8 dias			Após 17 dias		
		Bactérias p/mm3	*Redução %*	*Exame microscópico do esfregaço da cultura*	*Bactérias p/mm3*	*Redução %*	*Exame microscópico do esfregaço da cultura*
Cl. 7	275.000	Prejudicado (contagem perdida)	—	Bastonetes Gram negativos. Numerosas formas em bola, Gram negativas. Raros esporos isolados.	2.000	99,28	Raras formas Gram positivas, curtas e longas.
Cl. 8	320.000	146.000	54,40	Numerosas formas Gram positivas. Algumas formas em bola, Gram negativas. Esporos livres.	28.500	91,10	Formas Gram positivas em pequeno número. Raros esporos.
Cl. 10	7.000.000	60.000	99,15	Numerosas formas em bola. Algumas formas Gram positivas. Alguns esporos livres.	Prejudicado (contagem perdida)	—	Formas Gram positivas de tamanho médio. Poucos esporos.
Cl. 18	1.000.000	11.500	99,85	Numerosos bastonetes Gram positivos. Bastonetes Gram negativos. Raros esporos.	2.750	99,73	Formas Gram positivas em pequeno número. Esporos isolados ou endocelulares em quantidade regular.
Cl. 24	5.200.000	7.000	99,97	Formas Gram positivas e negativas. Formas em bola. Esporos com relativa frequência.	600	99,99	Formas Gram positivas raras. Esporos com relativa frequência.

CONTAGEM DAS CULTURAS TESTEMUNHAS, CONSERVADAS EM TEMPERATURA AMBIENTE

Amostra Welchii	*Bactérias p/mm3 na cultura original*	Após 8 dias			Após 18 dias		
		Bactérias p/mm3	*Redução %*	*Exame microscópico do esfregaço da cultura*	*Bactérias p/mm3*	*Redução %*	*Exame microscópico do esfregaço da cultura*
Cl. 7	275.000	270.000	Não houve redução	Formas preesporuladas. Formas filamentosas em grande número. Frequentes formas em início de esporulação.	Prejudicado (contagem perdida)	—	Bastonetes Gram positivos médios e [illegible] em número pequeno. Formas em cadeia. Ausência de esporos.
Cl. 8	320.000	600.000	Não houve redução	Predominância de formas médias, Gram positivas, bem coradas. Nenhum esporo.	500.000	Não houve redução	Muitas formas Gram positivas, predominando o tipo médio. Ausência de esporos.
Cl. 10	7.000.000	20.000.000	Não houve redução	Formas Gram positivas bem coradas, predominando formas filamentosas. Nenhum esporo, formação de cadeias.	16.200.000	Não houve redução	Formas Gram positivas numerosas, predominando as filamentosas. Algumas formas degeneradas. Ausência de esporos.
Cl. 18	1.000.000	5.450.000	Não houve redução	Predominância de formas Gram positivas. Início de esporulação. Raras formas Gram negativas.	100.000	Não houve redução	Formas Gram positivas em pequeno número, tipo médio. Raras formas Gram negativas. Ausência de esporos. Algumas formas monstruosas.
Cl. 24	5.200.000	7.000.000	Não houve redução	Formas Gram positivas numerosas. Predominância de formas de tamanho médio. Não havia esporo.	800.000	Não houve redução	Formas filamentosas Gram positivas. Bastonetes com deformações. Raras formas Gram negativas. Ausência de esporos.

BIBLIOGRAFIA

BACHMANN, F., 1912, Beitrag zur Kentnniss obligat anaerober Bakterien. *Zbl. Bakt.* Abt. 2, 36: 1-41.

BREDEMANN, G., 1909, Untersuchungen über die variation und das stickstoff-bildungsvermogen des *Bacillus asterosporus* A. M., ausgeführt an 27 Stämmem verschiedener Herkunft. *Zbl. Bakt.* 2 Abt., 22: 44-89.

CHUDIAKOW, N., 1898, Zur Lehre von der Anaerobiose. *Zbl. Bakt.* 2 Abt., 4: 389-394.

FERMI, C. & BASSU, E., 1905, Weitere Untersunchungen über Anaerobiose. *Zbl. Bakt.* Orig. 38: 138-145.

LÜDERITZ, C., 1889, Zur Kenntniss der anaeroben Bakterien. *Z. Hyg. Infekt Kr.*, 5: 141-160.

MEYER, A., 1909, Bermerkungen über aërobiose und anaërobiose, *Zbl. Bakt.*, Orig., 49: 305-316.

MEYER, A., 1906, Apparat f. die kultur von anaeroben Bakterien und f. die bastimmung der Sauertoffminima fur Keimung, Wachstum und Sporenbildung der Bakteriens-pecies. *Zbl. Bakt.* Abt., 2, 15: 337-349.

MEYER, A., 1929, Maximum oxygen tolerance of Cl. botulinum A. B. and C., of Cl. sporogenes and Cl. Welchii. *J. Infect. Dis.*, 44: 408-411.

PACHECO, G. & COSTA, G. A., 1940, Acção do oxygenio sob pressão sobre a acção pathogenica dos germens anaerobios. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 35: 303-309.

QUASTELL, J. H. & STEPHENSON, M., 1926, The relationship of B. sporogenes to oxygen. *Biochem. J.*, 20: 1.125-1.137.

SMIDT, F. P. G., 1923-24, Notes on the sporulation of B. sporogenes and other anaerobes. *J. Hyg.*, 22: 314-324.

ZEISSLER, J., 1930, Anaerobenzuchtung, *in* Kolle & Wassermann, Handb. der path. Mikroorg., 3ª Ed. Bd. 10.

Rev. Brasil. Biol., 1 (2): 155-159
Junho, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

NOTA SOBRE A CONSERVAÇÃO DE COGUMELOS PELO DESSECAMENTO [1]

GOBERT ARAUJO COSTA
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

A conservação de microorganismos viaveis nos laboratórios é dos problemas que mais tem preocupado os pesquisadores. Já ha muito se vem tentando processos de preservação de bactérias, virus ou cogumelos, lançando mão de artifícios afim de evitar sua morte. Para as bactérias a literatura refere inúmeros métodos utilizados procurando todos a conservação dos caracteres biológicos. KITASATO utiliza um processo de secagem de bactérias impregnando com elas fios de seda e secando em vácuo sob ácido sulfúrico. HEIM, SOYKA e SOYKA & KRALL utilizam o processo de KITASATO com bons resultados. SHACKELL verifica ser o resfriamento favoravel à conservação de produtos biológicos e HAMMER vale-se desta técnica para conservar bactérias dessecadas no vácuo resfriadas com salmoura. FLOSDORF & MUDD aplicam o processo em larga escala para conservação de produtos biológicos e SWIFT introduz a técnica de forte resfriamento prévio das culturas de mistura com neve carbônica e alcool, secando-as em seguida. Não foi esquecida a conservação dos virus, tentada pelo dessecamento em baixa temperatura com bons resultados.

Em colaboração com GENESIO PACHECO tivemos oportunidade de descrever a aparelhagem utilizada em pesquisas dessa natureza. Com os resultados obtidos pelo processo aplicado às bactérias e virus ocorreu-nos a idéia de experimentá-lo com os cogumelos.

A conservação de cogumelos sem perda dos seus caracteres morfobiológicos é um problema que muito preocupa e interessa os micologistas. Em se tratando dos dermatofitos a importância é aumentada pois o pleomorfismo a que estão sujeitos impede caracterisações posteriores e manutenção de *tipos* com caracteres fixos. Além disso é preciso notar que a conservação de espécimes em laboratório de micologia é demasiado penosa pela necessidade frequente de repicagens, facilitando contaminações, pleomorfismo, degenerações além do dispêndio de material.

---

[1] Recebido para publicação a 6 de Maio de 1941.
Trabalho do Laboratório de Bacteriologia do Instituto Oswaldo Cruz.

Tudo que se tem feito para conservação de cogumelos é visando impedir aparecimento de pleomorfismo nos dermatofitos. Além dos processos clássicos dos meios de conservação descritos por Sabouraud e outros a literatura refere alguns bastante interessantes. Brooks & Rhodes por exemplo utilizam solução de sacarose para conservar cogumelos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. Karrenberg emprega com bons resultados papa de cérebro de v. Hibler onde conserva por um ano amostras de *Achorion gypseum, Trichophyton gypseum-asteroides, Epidermophyton rubrum, Epidermophyton clypeiforme, Epidermophyton lanosum,* e *Epidermophyton niveum,* sem perda de seus caracteres morfo-biológicos. Grigoraki idealisou um meio com leite onde semeou 14 amostras de *Trichophyton faviforme,* 3 de *Achorion violaceum,* 1 de *Microsporum lanosum* e 1 de *Trichophyton crateriforme*. Todas as amostras no fim de 10 meses apresentavam íntegros seus caracteres morfo-biológicos. Cumpre assinalar ainda o processo utilizado por Pablo Negroni para a conservação de dermatofitos; culturas não pleomórficas são dessecadas em vácuo em presença de ácido fosfórico anhídrico e guardadas em geladeira. Negroni consegue bons resultados com este processo.

Tentamos empregar a mesma técnica que atualmente usamos para conservação de bactérias; culturas de cogumelos depois de bem desenvolvidas eram raspadas ou retirado um pequeno fragmento e suspensas em 0,2 cc. de sôro normal de cavalo. Procedia-se então à secagem em dessecador metálico com ácido sulfúrico conservado em baixa temperatura.

TÉCNICA

1) Colocar 0,2 cc. de sôro (pode ser usado outro coloide protetor) em ampolas estéreis de fundo largo, para aumentar a superfície.

2) Suspender uma alça carregada com a cultura no coloide protetor; etiquetar e numerar a ampola.

3) Preparar a mistura neve carbônica mais álcool ou eter.

4) Congelar as suspensões de cogumelos mergulhando os tubos na mistura.

5) Passar as suspensões congeladas para frascos com glicerina previamente resfriada por conservação ulterior no dessecador.

6) Dispor os frascos com culturas congeladas sobre um disco perfurado acima da camada de ácido sulfúrico.

7) Fechar o dessecador.

8) Fazer o vácuo durante 1 hora e conservar 24 hs. na frigorífica.

9) Abrir o dessecador, fazendo penetrar o ar através uma camada de cloreto de cálcio seco para evitar humidade do ar.

10) Retirar as ampolas e fechá-las à lâmpada. Conservá-las na geladeira.

O vácuo deve ser feito com bomba de força suficiente para dar um vazio de 0,01 mm. de Hg. em curto espaço de tempo.

Resultados — Com esta técnica secamos 33 amostras de várias espécies de cogumelos. O quadro abaixo nos dá uma idéia dos resultados obtidos:

NOME	*Número*	*4 meses*	*6 meses*	*10 meses*
Microsporum fulvum	—	viva	—	—
Microsporum lanosum	—	viva	—	—
Hormodendrum Pedrosoi	—	viva	—	—
Phialophora verrucosa	—	viva	—	—
Trichophyton crateriforme	—	viva	viva	—
Acrotheca Pedrosoi	1842	—	viva	—
Aspergillus cinnamoneus	196	—	viva	—
Mucor hiemalis	733	—	viva	—
Actinomyces bovis	1789	—	viva	—
Sporotrichum sp.	958	—	viva	—
Levedo	1371	—	viva	morta
Levedo	1188	—	viva	viva
Levedo	839	—	viva	viva
Levedo	1357	—	viva	viva
Saccinomyces crustaceum	1539	—	viva	morta
Saccharomyces ellipsoideus	1366	—	morta	morta
Saccharomyces ellipsoideus	1189	—	viva	viva
Saccharomyces mallus	547	—	viva	viva
Saccharomyces paradoxus	1350	—	viva	morta
Rhizomucor septatus	120	—	viva	viva
Aspergillus niger	129	—	viva	viva
Pacciolomyces varioti	1749	—	viva	viva
"Piedra de Japon"	1698	—	viva	viva
Trichosporon giganteum	1515	—	viva	viva
Trichosporon Humahuaquense	1003	—	viva	viva
Trichosporon venezuelensis	1823	—	viva	viva
Rhinocladium sp.	1566	—	viva	viva
Aspergillus effusus	1203	—	viva	viva
Absidia orchidis	1675	—	viva	viva
Phycomyces Blakesleeanus	1844	—	viva	viva
Absidia coerulea	391	—	viva	viva
Acrothecium nigrum	1243	—	viva	viva
Actinomyces bovis	1076	—	viva	viva

Nota: As amostras numeradas pertencem à coleção do Instituto Oswaldo Cruz.

Analisando os resultados obtidos vemos que de um modo geral o processo de conservação presta-se bem a sua finalidade. Si bem que algumas amostras resistiram pouco tempo estamos convencidos que melhor técnica venha suprir as falhas observadas. Dos levedos, 4 amostras secas 6 meses antes vegetaram bem e com 10 meses, apenas 3 sobreviveram. Dos *Saccharomyces*, de 4 culturas experimentadas apenas 2 sobreviveram com 10 meses. Revendo a técnica de secagem utilizada parece-nos que a explicação destes resultados negativos deva estar no emprego de culturas muito recentes ou demasiado velhas.

A nossa atenção foi despertada pelo resultado encorajador fornecido pelos dermatofitos. Todas as culturas secas conservaram-se viaveis por 6 e 4 meses sem perda de seus caracteres microscópicos, nem modificação dos orgãos de reprodução. Enviando culturas secas ao Dr. Aroeira Neves foi-lhe possivel identificar uma cultura de *Trichophyton* que propositadamente lhe fora mandada sem indicações.

De posse desses dados experimentais podemos fazer juizo sobre o valor desse processo de conservação para cogumelos. E' desnecessário encarecer a aplicação prática e as vantagens decorrentes do uso generalizado deste meio de conservação poupando tempo, evitando contaminações, desperdício de material de cultura e trazendo ao micologista a possibilidade de evitar pleomorfismos. Continuamos as pesquisas tendo em vista melhoria da técnica experimentando maior número de amostras.

Ao terminar queremos agradecer aos Drs. Arêa Leão, Aroeira Neves e Ramos e Silva a valiosa colaboração que nos prestaram.

RESUMO

1 — Pode-se conservar cogumelos e levedos pelo dessecamento no vácuo em baixa temperatura.
2 — A maioria dos cogumelos e levedos experimentados sobreviveram nessas condições até 10 meses, tempo maior que foi observado. Pequeno número sobreviveu menor tempo.
3 — As amostras conservadas vivas por dessecamento em vácuo não apresentaram pleomorfismo, inclusive os dermatofitos.

SUMMARY

1 — Fungi and yeasts may be preserved through dessication in vacuum at low temperatures.
2 — Under these conditions, the majority of the fungi and yeasts survived up to 10 months, which was the longest period observed. A small number survived a shorter time.
3 — The samples, including the dermatophytes, kept alive by dessication in vacuum did not present pleomorphism.

BIBLIOGRAFIA

BROOKS, J. & RHODES, M., 1936, Rep. Proc. 2nd Internat. Congress. Microb. London.
DOLGE, C. W., 1935, Medical Mycology, St. Louis.
FLOSDORF, E. W. & MUDD, S., 1935, Procedure and apparatus for preservation in "lyophile" form of serum and other biological substances. *J. Immunol.*, 29: 389-425.

GRIGORAKI, L., 1938, Sur un nouveau milieu de conservation des Dermatophites *C. R. Soc. Biol., Paris,* 128: 887-888.

HEIM, L., 1905, Die Widerstandsfähigkeit verschiedener Bakterienarten gegen Trocknung und die Aufbewahrung bakterienhaltigen Materials insbesondere beim Seuchendienst und für gerichtlich-medicinische Zwecke. *Z. Hyg. Infekt Kr.,* 50: 123-138.

KARRENBERG, C. L., 1933, Beobachtungen über Wachstum und Konservierung pathogener Hautpilze auf Hirnbrei nach v. Hibler. *Arch. Dermat. Syph.,* Berlin, 168: 125-145.

KITASATO, S., 1889, Die Widerstandsfähigkeit der Cholerabacterien gegen das Eintrocknen und gegen Hitze. *Z. Hyg. Infekt Kr.,* 5: 134-140.

NEGRONI, P., 1939, Morfologia e Biologia de los hongos — Buenos Aires.

PACHECO, G. & ARAUJO COSTA, G., 1940, Conservação de bacterias pelo dessecamento. *O Hospital,* 17: 217-226.

SHACKELL, L. F., 1909, An improved method of dessication, with some applications to biological problems. *Amer. J. Physiol.,* 24: 325-340.

SOYKA, J., 1887, Ueber ein verfahren Dauerpräparate von Reinculturen auf festen Nahrboden verzustellen. *Zbl. Bak., Orig.,* 1: 542-544.

SOYKA, J. & KRALL, F., 1888, Vorschlage und Anleitungen zur Anlegung von bacteriologischen Museen. *Z. Hyg. Infekt Kr.,* 4: 143-150.

Rev. Brasil. Biol., 1 (2): 161-163
Junho, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

RETÍCULO-ENDOTELIOSE ALEUCÊMICA E CORPOS DE AUER [1]

R. PIMENTA DE MELLO
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

(Com 3 figuras no texto)

Os corpos de AUER foram vistos pela primeira vez por AUER em 1906, que os descreveu de uma leucemia linfoide aguda, por ele examinada, e têm sido objeto de varias publicações. Estas referem-se principalmente a leucemias mieloides, linfoides e monocíticas, casos agudos, e, além dêsses, a um caso de cloroleucemia e outro de tuberculose miliar sub-aguda entretanto com sinais leucêmicos bastante evidentes.

Fato interessante é a correlação quasi constante entre os corpos de AUER e casos agudos ou quando muito sub-agudos de leucemia, o que pode muito bem servir de complemento de diagnóstico hematológico nos casos duvidosos.

O número de corpos de AUER em cada célula varia dentro de limites bastante largos como poderemos constatar nas microfotografias apresentadas mais adiante.

A primitiva verificação de AUER referia-se não só a êsses bastonetes azurófilos, que mais tarde tomaram o seu nome, como, à granulações, algumas volumosas, hoje em dia entretanto consideradas como sendo bastante frequentes em linfocitos de indivíduos sem dúvida alguma normais.

A grande maioria de casos descritos pertence à categoria das leucemias mieloblasticas, tanto que já se acostumou a associar estas leucemias aos corpos de AUER; autores mesmo, como por exemplo, ISHIKAWA (1919) e AIBARA (1930-31) afirmam que somente nos mieloblastos são estes encontrados.

Na leucemia monocítica, já foram os corpos de AUER vistos pelos seguintes autores: SYDENSTRICKER e PHINIZY (1932), CLOUGH (1932), LEVINE (1934), HAWKSLEY (1935). Êste, em ùm trabalho com boa documentação, os encontrou não só nas células circulantes como nas células leucêmicas na biópsia da medula óssea; finalmente ROVERSI e SALARIS (1938) constataram-os não só na leucemia monocítica, e ainda,

[1] Recebido para publicação a 7 de Maio de 1941.

cremos que pela primeira vez, em um caso de retículo-endoteliose leucêmica.

Em seguida a este breve resumo da casuística, passemos à descrição do caso por nós observado, que era de uma retículo-endoteliose aleucêmica.

RESUMO DA HISTÓRIA CLÍNICA:

P. S. — fem., branca, casada, 38 anos, brasileira.

Doente ha quasi dois meses. Início por tumefação das gengivas e hemorragia gengival pelo que procurou o dentista. Este se recusou a arrancar o dente e a tratar das gengivas com receio da hemorragia (sic.). Como se agravasse o estado, pelo aumento das hemorragias locais, tumefação dos gânglios do pescoço, dificuldade na deglutição, escarros sanguíneos, febre e enfraquecimento geral, concomitantemente com o aparecimento de petequias pelo corpo, internou-se no Hosp. S. Franc. de Assis.

Dados clínicos — Boca, escoamento de saliva sanguinolenta. Petequias numerosas por todo o corpo, aumento dos gânglios cervicais, principalmente à esquerda com certo empastamento dos tecidos peri-ganglionares, edema notavel nos membros inferiores, cuja pressão é dolorosa. Fígado aumentado. Baço aumentado de volume, tornando-se facilmente palpavel abaixo da reborda costal. Temperatura axilar 39°. Pulso 112.

EXAME HEMATOLÓGICO

Hematias	700.000 por mmc.
Hemoglobina	19 % (Sahli).
Leucocitos	1.200 por mmc.
Contagem especifica, lâmina 135M.	
Histiocitos monocitoides	35 %
Monoblastos	19 %
Monocitos	13 %
Neutrófilos miel.	1 %
" jov.	0 %
" metam.	0 %
" segment.	2 %
Basófilos	0 %
Eosinófilos	0 %
Linfocitos	30 %

Série vermelha: Poiquilocitose (ovalocitose), anisocitose, eritroblastos.
Plaquetas: hipoplaquetose.

Pelo exame hematológico reunido aos dados clínicos, concluiu-se pela existência de uma leucemia tida primeiramente como leucemia

Figs. 1 a 3 — Corpusculos de *Auer*, microfotografias com x 1.500

aleucêmica do tipo monocítico, tendo sido mais tarde após exame detalhado dos elementos sanguíneos, enquadrada como retículo-endoteliose aleucêmica.

Na figura 1, que representa um monocito, vemos um corpo de AUER, bem visivel, pequeno, de extremidades arredondadas. Na figura 2, notamos um longo e vigoroso corpo de AUER em um monocito, como que partindo da massa nuclear, com sua extremidade livre, pode-se assim dizer, terminando em ponta afilada. Na figura 3, finalmente, encontramos como fato interessante o grande número de corpos de AUER espalhados pelo plasma de um monocito cujo núcleo assemelha-se ao dos elementos jovens da série vermelha.

Nas figuras representadas, notamos que os monocitos diferem de maneira sensivel dos existentes nas leucemias monocíticas propriamente ditas, podendo-se então reservar para aqueles a denominação de monocitos retículo-endoteliais.

CONCLUSÕES

Do exposto concluimos que, contrariamente ao afirmado por alguns autores, os corpos de AUER são comuns a todas as leucemias, como sejam as leucemias mieloblasticas, as linfoides agudas e sub-agudas, a leucemia monocítica e, finalmente, nas retículo-endotelioses agudas.

BIBLIOGRAFIA

AIBARA, N., 1931, Study of Auer bodies. *Nagoya J.. Med. Sci.*, 5: 148-164.

AUER, J., 1906, Some undescribed structures found in the large lymphocytes of a case of acute leukaemia. *Amer. J. Med. Sci.* 131: 1002-1015.

CLOUGH, P. W., 1932, Monocytic leukaemia. *Bull, Johns Hopkins Hosp.*, 51: 148-177.

HAWKSLEY, J. C., 1936, Occurrence of Auer bodies. *J. Path. Bact.*, 40: 365-369.

ISHIKAWA, T., 1919, *Mitt. a. d. med. Fakult. d. k. Univ. zu Tokio*, 22: 321.

LEVINE, V., 1934, Monocytic leucemia. *Folia haemat.*, 52: 305-338.

ROVERSI A. S. & SALARIS, C., 1938, Leucemia monocitica e leucemia reticoloendoteliale. *Haematologica* 19: 735-826.

SYDENSTRICKER, V. P. & PHINIZY, T. B., 1932, Acute monocytic leukemia; case with partial autopsy. *Amer. J. Med. Sci.*, 184: 770-777.

Rev. Brasil. Biol., 1 (2): 165-177
Junho, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

RECHERCHES SUR L'ATTAQUE ÉPILEPTIFORME PRODUITE PAR LE REFROIDISSEMENT BRUSQUE DE LA MOELLE ÉPINIÈRE

Premier mémoire — Introduction et technique [1]

MIGUEL OZORIO DE ALMEIDA, H. MOUSSATCHÉ et M. VIANNA DIAS
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

(Avec 2 figures)

Il y a quelques années, l'un de nous a montré que le refroidissement brusque de la moelle épinière de la Grenouille sud-américaine (*Leptodactylus ocellatus*), produit une attaque épileptiforme parfaitement caractérisée (16). Le phénomène nous a semblé dès lors assez intéressant et nous lui avons consacré une série de recherches systématiques, destinées non seulement à bien mettre en évidence les conditions de sa production, comme encore à étudier l'action des substances pharmacologiques qui peuvent le modifier ou l'abolir. Ces recherches nous ont déjà donné de nombreux résultats que nous avons publié au fur et à mesure dans des notes éparses. Quoique nous soyons encore très loin d'avoir épuisé l'étude du phénomène, nous croyons qu'il faut faire un exposé d'ensemble des faits, en développant plus particulièrement certains points que nous avons jusqu'ici présenté d'une manière trop sommaire, ou des faits qui n'ont pas encore été apportés à la connaissance du public scientifique.

Le phénomène se présente avec des caractères très différents d'après les espèces de Grenouilles, et, pour une même espèce, on remarque encore des variations qui dépendent des conditions de l'*habitat* des animaux. Nous développerons ces points dans un des mémoires prochains. Mais l'étude complète de cet aspect de la question exigerait des recherches faites dans plusieurs pays différents. Étant données les difficultés des voyages, celles que nous avons pu faire nous-mêmes sont peu nombreuses. Nous serions donc très heureux si d'autres physiologistes de différents pays s'intéressaient à ce phénomène en lui consacrant des travaux de recherches. Pour cela, nous nous étendrons

[1] Reçu le 8 Mai 1941.
Travail du Laboratoire de Physiologie de l'Institut Oswaldo Cruz.

un peu sur notre technique et nos résultats en donnant tous les détails qui puissent intéresser.

Des recherches bibliographiques étendues nous ont convaincus que le phénomène était inconnu. Cependant, nous croyons utile de faire un résumé de la question de l'épilepsie spinale, avant de décrire le phénomène lui-même.

LA QUESTION DE L'ÉPILEPSIE SPINALE EXPÉRIMENTALE

Depuis la découverte classique de FRITSCH et HITZIG (production d'une attaque épileptiforme par excitation électrique des centres moteurs cérébraux), on a tâché d'exploiter les autres régions du système nerveux central dans le but de vérifier quelles étaient celles qui pouvaient donner lieu à des phénomènes convulsifs. On a constaté aussitôt que l'excitation chimique du plancher du quatrième ventricule donne aussi lieu à des convulsions (HEUBEL (6), LAPINSKY (8)). Certains auteurs ont même pensé qu'il y avait dans cette région un centre convulsif. D'autres physiologistes et en particulier LUCIANI (11) croyaient cependant, que toute réaction convulsive exige pour sa production la participation directe de l'écorce cérébrale.

En ce qui concerne la moelle épinière, les tentatives de la majorité des chercheurs dans le but d'obtenir des attaques convulsives ont donné des résultats négatifs [2]. Il est vrai que BROWN-SÉQUARD (5) affirmait avoir vu des attaques épileptiformes au moment d'écraser la tête des Cobayes, l'écrasement atteignant le bec du *calamus scriptorius* et éliminant de la sorte tous les centres supérieurs. Ces expériences ne sont pas démonstratives. On peut dire que les autres observations de BROWN-SÉQUARD (4), comme aussi celles des auteurs qui l'ont précédé n'étaient pas libres d'objections sérieuses et ne furent pas confirmées. HUGHLINGS JACKSON croyait que ce serait merveilleux de trouver des attaques produites par les centres nerveux inférieurs, semblables à celles qui sont dues à l'action des centres supérieurs plus développés. La théorie de l'origine médullaire de certaines attaques convulsives (KUSSMAUL et TENNER, VAN DER KOLK) n'a pu être maintenue après un examen plus approfondi de la question. LAPINSKY (9, 10) a fait une revue critique des travaux antérieurs et en reprenant la question dans de nouvelles expériences, en appliquant des excitations chimiques (application directe de créatine, de chlorure de sodium, santonine et sels biliaires) ou électriques (courants faradiques), n'est jamais arrivé à obtenir quelque chose pouvant ressembler à une attaque épileptiforme. Sans vouloir trop nous allonger, nous rappelerons que, dans une revue relativement récente de la question des épilepsies, KINNIER WILSON (24) déclare:

---

[2] Les résultats négatifs des tentatives de reproduction expérimentale d'une forme d'épilepsie purement spinale ont pendant longtemps formé un contrast avec l'opinion des cliniciens et des pathologistes, qui, basés sur l'observation clinique, parlaient toujours de l'*épilepsie spinale*.

"À ma connaissance, une épilepsie strictement spinale, c'est-à-dire chez l'animal purement spinal, ne fut pas expérimentalement trouvée, quoiqu'il n'existe aucune impossibilité théorique de sa production."

Nous avons remarqué que les travaux dans lesquels on tentait de réproduire des attaques d'épilepsie par excitation électrique directe de la moelle étaient presque tous déjà anciens [3], et qu'il serait intéressant de reprendre la question en variant les caractéristiques du courant excitant. Dans nos expériences (18), nous avons fait des excitations directes de la moelle non seulement par des courants d'induction, comme aussi par des courants réctangulaires ou des décharges de condensateurs de capacités variables, à des fréquences qui pouvaient varier de 1 à 300 ou parfois 600 par seconde. Pour les petites fréquences, nous avons utilisé un cylindre à cames de L. Lapicque. Un interrupteur à roues dentées de Marey nous donnait des fréquences plus grandes, allant jusqu'à 60 par seconde. Des diapasons munis d'archets de Guillet étaient employés pour les plus grandes fréquences. Un de ces appareils donne 300 vibrations doubles par seconde, et, dans le cas des courants alternatifs d'induction, on atteignait ainsi 600 par seconde.

Nous avons employé, dans ces expériences, la préparation moelle isolée-train postérieur de la Grenouille sud-américaine (*Leptodactylus ocellatus*), préparation que nous décritons en détail dans ce mémoire même. À la partie inférieure de la colonne vertébrale, on enlevait deux arcs vertébraux et, sur la partie ainsi découverte de la moelle on appliquait une électrode stigmatique, constituée par un tube en verre effilé, bouché à son extrémité inférieure par de l'ouate et rempli d'une solution de Ringer, dans laquelle plongeait le fil d'argent chloruré conducteur du courant. Une autre électrode semblable, courbée à angle droit, était mise en contact avec la surface de section de la moelle immédiatement au-dessous du bulbe rachidien. Les courants électriques parcouraient donc toute la masse de la moelle.

En aucun cas, nous n'avons rien obtenu qui ressemble à une attaque épileptiforme. Suivant l'intensité des excitations, on obtenait des mouvements de flexion ou d'extension des pattes. Signalons en passant, que, pour certaines fréquences, on obtenait un mouvement de flexion de l'une des pattes et d'extension de l'autre. Si la fréquence était suffisante, on voyait des réactions tétaniques. Dans presque tous les cas, les réactions s'arrêtaient aussitôt après l'interruption du passage des courants excitants, et quand il y avait encore quelques mouvements,

[3] En effet, les recherches anciennes de Van Deen répétées par Guttman, ont amené ces auteurs au point de nier même l'excitabilité électrique de la moelle. Les auteurs qui ont démontré l'existence de cette excitabilité ont constaté des mouvements provoqués par les excitations mais sans donner des attaques caractéristiques. Baglioni (2) a constaté que ces mouvements peuvent persister quelques secondes après l'arrêt de l'excitation électrique. Dans des recherches plus récentes, Hoffmann, Holzlöknер et Leegaard (7) en étudiant la production de chaleur dans la moelle isolée, ont fait des excitations électriques par des courants d'induction. Les auteurs ne font aucune allusion à des réactions convulsives.
Les expériences de Bikeles (3) sur les effets de l'excitation de la moelle lombaire à travers la peau et tous les tissus, ne permettent aucune conclusion nette en ce qui concerne la question que nous traitons ici.

ils étaient désordonnés et pas du tout épileptiformes. D'ailleurs, dans nombre d'expériences, les réflexes pouvaient être obtenus dans les intervalles des excitations.

En résumé, chez la Grenouille sud-américaine qui, comme on le verra, présente des réactions médullaires convulsives produites assez facilement par le froid, l'excitation électrique ne produit pas d'attaque épileptiforme. Plus récemment, deux d'entre nous ont repris la question de la possibilité de production de l'attaque par excitation chimique (12).

L'ensemble des résultats des recherches faites avec les espèces animales européennes, avait donc établi la notion de l'impossibilité de reproduire expérimentalement une forme d'épilepsie purement spinale. La constatation d'une attaque épileptiforme d'origine strictement spinale et produite par un agent physique comme le froid présentait donc, dès le début, un intérêt très vif.

TECHNIQUE

Toutes nos recherches sur l'attaque épileptiforme par refroidissement ont pu être réalisées parce que nous étions en possession d'une technique d'isolement des centres nerveux des Batraciens et de quelques autres animaux, comme les Lacertiliens. En effet, il ne suffit pas de séparer la moelle des centres supérieurs. Nous verrons que le refroidissement de l'animal lui-même ne produit rien de semblable à ce que l'on observe dans le cas des préparations de système nerveux isolé, à moins que la taille de l'animal ne soit très réduite, comme c'est le cas pour quelques espèces de Rainettes. Nous ferons donc une description résumée des préparations utilisées dans nos recherches (19).

Préparations de système nerveux isolé — Baglioni avait décrit, il y a déjà longtemps une technique d'isolement de la moelle chez la Grenouille et le Crapaud et cette préparation a rendu de grands services (1). Après avoir ouvert le canal vertébral, la moelle étant ainsi exposée, il isole complètement la colonne de toutes les parties environnantes. Le sciatique est disséqué jusqu'au genou, la jambe est séparée par une section faite à l'extrémité inférieure de la cuisse. On enlève la peau de la jambe en conservant celle du pied. On a ainsi une surface réceptrice d'excitations — la peau du pied —, les muscles de la jambe, les filets nerveux centripètes et centrifuges contenus dans le tronc du sciatique et la moelle isolée. Winterstein (25) a modifié la préparation de Baglioni, en libérant entièrement la moelle épinière elle-même de la colonne vertébrale. Ces préparations ont servi surtout pour les recherches sur le métabolisme des centres nerveux. Mais, pour certaines recherches, elles ont un inconvénient: elles réduisent trop le champ d'observation du système musculaire et ne permettent pas d'étudier les actes réflexes ou d'autres dans toute leur complexité.

La préparation moelle isolée-train postérieur a été décrite déjà il y a quelque temps par l'un de nous (15) [4]. Elle est très facile à faire.

On coupe la moelle en la séparant de l'encéphale et l'on attache la Grenouille sur une plaque de liège. On coupe longitudinalement la peau du dos depuis l'anus jusqu'à la tête, en écartant latéralement les deux lambeaux. Après avoir de même coupé les grandes aponévroses dorsales, on soulève par une pince le sacrum, en coupant par des ci-

Fig. 1 — Préparation moelle isolée-train postérieur de la Grenouille. Vue dorsale. Le canal vertébral a été conservé fermé.

[4] Dans un travail d'ensemble de WINTERSTEIN (26) nous avons vu plus tard la citation d'un travail d'OVERTON et V. FREY que nous n'avons pas eu à notre disposition, dans lequel ils décrivent une préparation peut-être assez semblable à celle que nous décrivons ici.

seaux les muscles sacro-coccygien et ilio-coccygien, qui recouvrent les nerfs lombaires. Ceux-ci sont rapidement isolés et disséqués. En introduisant de chaque côté l'une des branches des ciseaux entre l'os iliaque et la ligne latérale de la colonne vertébrale, on fait des incisions parallèles à celles-ci, en dehors des apophyses transverses des vertèbres, jusqu'à atteindre la section supérieure qui a séparé la colonne du crâne. On finit l'isolement de la colonne vertébrale en coupant tous les organes ou tissus qui y sont attachés; on la rabat en arrière pour finir la préparation en isolant les os iliaques et en séparant le train postérieur de tous les organes voisins. La fig. 1 réprésente la préparation vue par sa face dorsale.

On peut conserver la moelle dans le canal vertébral intact, ou ouvrir celui-ci. Dans plusieurs cas, il n'y a pas besoin d'opérer l'ouverture du canal qui doit, d'ailleurs, être pratiquée, quand il le faut, avant l'opération d'isolement de la moelle.

Si on laisse la moelle dans le canal vertébral intact, les échanges gazeux nécessaires ne se font pas dans de bonnes conditions et, au bout d'un certain temps, l'excitabilité disparaît. Ce temps dépend essentiellement des conditions de la température. Dans notre laboratoire, où la température est presque toujours au-dessus de 20°, la moelle isolée conserve son excitabilité d'un quart d'heure à une demi-heure environ [5].

On peut faire une préparation dans laquelle tout le système nerveux central de la Grenouille est conservé isolé des parties voisines (17). Pour obtenir cette préparation, on opère comme dans le cas de la préparation moelle isolée-train postérieur, sans faire la section préalable de la moelle allongée. Quand on sépare la colonne vertébrale des parties latérales, en arrivant avec les ciseaux au squelette de la tête, on contourne celui-ci, en désarticulant ou coupant le maxillaire inférieur. L'opération étant faite des deux côtés, on la poursuit comme pour l'autre cas, et l'on a alors tout le système nerveux central rélié au train postérieur par les nerfs lombaires. On peut préalablement ouvrir le canal vertébral ou le crâne s'il y a besoin.

Il est très facile d'obtenir, en partant de la préparation de système nerveux intégral une préparation qui contient tout le système nerveaux moins les hémisphères cérébraux. Il suffit de couper le crâne en suivant une ligne transversale qui passe par le bord antérieur des membranes des tympans. Pour la commodité de l'exposition, nous appelerons cette préparation: *préparation mésencéphalique isolée*.

Technique du refroidissement brusque de la moelle isolée — La moelle isolée contenue dans le canal vertébral peut être refroidie de plusieurs manières différentes, sans que le train postérieur entièrement séparé, dans le cas de la Grenouille, ait à subir une modi-

[5] Voyez sur le temps de résistence des réflexes de la préparation moelle isolée-train postérieur, la série de notes en train de publication dans ce recueil même, dont la première est parue dans le numéro précédent (23).

fication quelconque: elle peut être plongée dans un bain constitué par une solution refroidie ou alors être soumise, quand elle est protégée par la colonne vertébrale, à l'action d'un jet de chlorure d'éthyle, ou à l'action de la neige carbonique.

Dans le premier cas nous utilisons un petit appareil construit d'après les indications de notre ancien assistant le Dr. Queiroz Lima (fig. 2). Une grande capsule en verre est soudée par ses bords aux bords d'un flacon cylindrique, en verre aussi, et d'un diamètre un peu

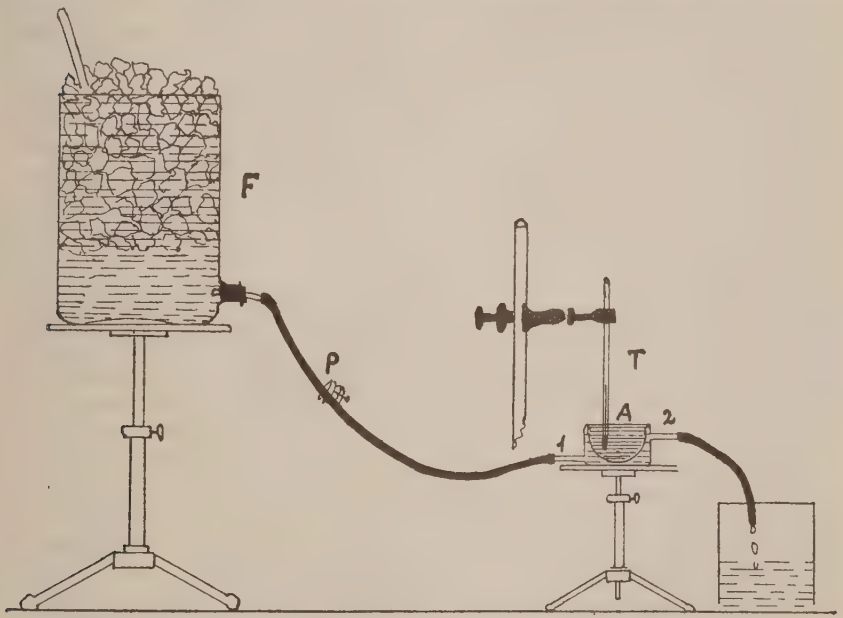


Fig. 2 — Schéma de l'appareil employé pour le refroidissement du système nerveux isolé (bain de Ringer).

plus grand que celui de la capsule. Cette capsule est remplie par la solution qui doit servir de bain réfrigérant. Deux tubes en verre sont soudés, l'un à la partie inférieure et l'autre à la partie supérieure du flacon (1, 2). Le premier est rélié par un tube en caoutchouc à un flacon (F) contenant du sel, de la glace et de l'eau. Le second sert de tube à écoulement et se prolonge par un tube en caoutchouc. Une pince à vis (P) permet de régler le debit. La solution destinée à recevoir la moelle se trouve refroidie par l'action du liquide circulant sans avoir aucun contact avec celui-ci. Un thermomètre (T) installé à demeure permet de connaître à tout instant la température du bain. Il est necessaire d'agiter constamment le liquide du bain car autrement les indications du thermomètre s'écartent trop de la réalité. Le train postérieur de la préparation est suspendu à un support en verre, par un fil attaché aux os iliaques. Ce support est rapproché du bain réfrigérant de manière telle que, étant donnée la longueur des nerfs lom-

baires de la Grenouille, la moelle plonge complètement dans le bain, tout le reste de la préparation continuant à la température du laboratoire.

Dans un bon nombre de cas il est suffisant de se borner à l'observation des réactions telles qu'elles se présentent. D'ailleurs nous avons pu faire faire des films très intéressants pour les démonstrations et les leçons. Mais il convient aussi, dans plusieurs cas, d'avoir des tracés graphiques. Pour cela, le train postérieur, au lieu de rester attaché par un fil à un support, est solidement fixé [6] à la plaque en liège d'un myographe placé contre l'appareil de refroidissement. En général nous inscrivons les contractions des gastrocnémiens. Pour obtenir de bons tracés il faut employer un appareil assez sensible, de manière à pouvoir inscrire le mieux possible les petites contractions. Évidemment les contractions fibrillaires de la période du début de l'attaque ne sont pas inscrites; le levier du myographe ne se déplace que s'il y a un raccourcissement d'ensemble du muscle.

La deuxième méthode consiste à lancer sur la colonne vertébrale non ouverte un jet de chlorure d'éthyle (20). Il faut, comme règle générale, que l'action du chlorure d'éthyle se fasse sur la colonne non ouverte et seulement sur elle, après isolement [7]. En effet, chez la Grenouille, si l'on opère sur l'animal entier ou simplement à moelle coupée, le jet du liquide réfrigérant ne produit pas l'attaque dans tous les cas. Si la taille de l'animal est assez grande, la colonne vertébrale restant en continuité avec les organes voisins, la moelle n'arrive pas à une température assez basse dans un délai suffisamment court et nous verrons plus tard l'importance aussi bien de la température atteinte que de la vitesse du refroidissement. Déjà chez les petites Raînettes, le jet de chlorure d'éthyle sur la colonne dorsale de l'animal intact donne lieu à une attaque typique. Dans ce cas, la masse des organes et des tissus voisins est très petite et le refroidissement se fait assez vite.

Dans le cas de la Grenouille, donc, on utilise toujours une des préparations de système nerveux isolé. Le train postérieur étant suspendu à la branche horizontale d'un support, la colonne vertébrale est placée sur un bloc en bois, de manière telle que les nerfs lombaires qui la relient au train postérieur soient inclinés vers le haut en partant de la colonne. En réglant la hauteur du support on obtient cela très facilement. Dans ces conditions, le chlorure d'éthyle qui est lancé sur la face dorsale de la colonne ne coule pas sur les nerfs et ceux-ci maintiennent leur conductibilité. Il est absolument nécessaire d'éviter l'action directe du liquide sur les troncs nerveux. Dans les cas où cette action se produit, après les phénomènes d'excitation qui se traduisent

---

[6] Cette fixation doit être très soigneusement faite en employant un nombre considérable d'épingles car, du contraire, la préparation se déplace au moment de l'attaque, qui est souvent d'une très grande intensité. Souvent, nous isolons le sciatique à la cuisse et séparons celle-ci du reste de la préparation, de manière à soustraire la jambe aux ébranlements dus aux contractions des muscles plus puissants de la cuisse.

[7] Nous verrons plus tard que, chez la Grenouille, l'attaque peut être obtenue avec le jet de chloréthyle, même avec la colonne ouverte. Elle se déclanche avant l'action anesthésique proprement dit.

par des contractions brusques et saccadées des muscles, les nerfs se congèlent et la préparation est rendue inutilisable.

La méthode du refroidissement par le jet de chlorure d'éthyle offre des avantages et, en revanche, présente aussi quelques inconvénients. Si l'on veut étudier les effets du refroidissement sur d'autres animaux comme certaines espèces de Lacertiliens, on ne peut pas faire une préparation dans laquelle les membres soient assez écartés de la colonne vertébrale. Cela rend impossible l'emploi de la méthode du bain et le jet de chlorure d'éthyle est tout indiqué. Il est aussi indiqué quand on doit descendre à des températures très basses comme c'est le cas pour les Grenouilles européennes et américaines du Nord. Il est cependant impossible de savoir avec quelque exactitude à quelle température est descendue la moelle au moment de l'attaque. On ne peut pas penser à introduire dans le canal vertébral un thermomètre ou un couple thermo-électrique: on détruirait totalement ou partiellement la moelle. Cependant, un thermomètre enveloppé dans de l'ouate formant un corps de forme et de dimensions semblables à celles d'une colonne vertébrale de Grenouille, peut descendre, sous l'action du chlorure d'éthyle à 14 ou 15° au-dessous de 0°. Dans les expériences elles-mêmes il faut éviter d'arriver à des températures aussi basses. L'expérimentateur doit se régler par les résultats obtenus, faire attention à ce que le refroidissement soit surtout fait du côté dorsal tourné vers le haut, sans atteindre la partie ventrale tournée vers le bas, où se trouvent les racines des nerfs lombaires.

Nous ne dirons que quelques mots à propos de la technique qui consiste à appliquer sur la colonne vertébrale isolée quelques fragments de neige carbonique. En employant cette méthode on obtient chez les Grenouilles de Rio de Janeiro, des attaques tout-à-fait identiques à celles que l'on produit par les deux autres méthodes. Notre expérience de cette technique est, cependant, limitée et nous avons toujours donné la préférence aux deux autres.

Dans la technique du bain réfrigérant, on doit remplir la cuve du petit appareil ci-dessus décrit avec une solution isotonique (liquide de Ringer, par exemple), si la température ne doit descendre au-dessous de 0°, étant donné que ces solutions se congèlent à quelques dixièmes de dégré au-dessous de 0°. Mais souvent on a intérêt à avoir une température de quelques dégrés au-dessous de 0°, tout en conservant les avantages de la méthode du bain. Entre autres choses, on peut alors connaître, au moins avec une certaine approximation la température au-dessous de laquelle l'attaque se produit. Dans ces conditions les solutions sont forcément hypertoniques et il a fallu faire une étude préparatoire de l'action de ces solutions sur le nerf à des températures très basses (21).

On connaît bien l'action des solutions concentrées de chlorure de sodium sur les nerfs: on observe des phénomènes d'excitation qui se traduisent, si le nerf possède des fibres motrices, par des contractions isolées ou soutenues des muscles innervés par lui. Nous avons repris

cette question et les résultats les plus intéressants de nos recherches peuvent être résumé comme il suit pour les expériences faites avec la préparation gastrocnémien-sciatique du *Leptodactylus ocellatus*.

Les contractions produites par les solutions hypertoniques de NaCl (de 1 à 20 p. 100) sont très irrégulières, dans ce sens que leur forme, leur fréquence, leur intensité ne suivent aucune règle précise. Dans quelques cas, rares pour les solutions plus concentrées (20 p. 100), et plus fréquents pour les solutions dont la concentration ne s'écarte pas trop de l'isotonie, les réactions ont complètement manqué. Parfois, les réactions commencent presque immédiatement après le moment où le nerf est plongé dans la solution; d'autres fois, il faut attendre plusieurs minutes (10 à 12). Les contractions du muscle (celui-ci étant toujours maintenu en dehors de la solution), peuvent être fibrillaires ou d'ensemble; dans ce dernier cas elles forment souvent des groupes, ces groupes étant séparés par des intervalles de repos.

La surface de section du nerf a une influence nette sur les phénomènes. Si le nerf ne présente aucune solution de continuité, très fréquemment les contractions peuvent manquer. En coupant le nerf, la surface de section étant ensuite plongée dans la solution, les contractions se présentent aussitôt. Mais souvent, après un certain temps, ces contractions se réduisent et tendent à s'arrêter. En renouvelant la section, elles reviennent. La section agit, peut-être, en facilitant la diffusion des sels, les gaines qui entourent les cylindre-axes opposant une barrière au passage de certaines substances. En effet, Overton (13) avait déjà signalé que l'action des sels de K, Rb, Cs et NH_4 est beaucoup plus lente à s'établir sur les nerfs que sur les muscles et explique ce retard par la présence des gaînes.

Une autre condition qui exerce une influence marquée sur les réactions produites par l'action des solutions concentrées de NaCl sur les nerfs, est constituée par la déshydratation générale de l'organisme de la Grenouille. Une telle déshydratation peut très simplement être obtenue en laissant les animaux au sec: ils perdent de l'eau par évaporation [8]. Dans nos expériences actuelles, nous avons utilisé des Grenouilles qui avaient perdu de 15 à 30 p. 100 de leur poids en eau. Quoique l'on ait trouvé un cas d'action excitante de la solution à 20 p. 100 sur le nerf sciatique d'une Grenouille qui avait perdu 26 p. 100 de son poids en eau, on peut conclure de nos expériences, que l'action des solutions hypertoniques de NaCl est de beaucoup moins intense et moins forte sur les nerfs des Grenouilles déshydratées, et ne se produit pas, si la déshydratation atteint un certain niveau, aux environs de 30 p. 100.

Le résultat qui nous interèsse le plus pour la question de l'épilepsie expérimentale nous a été donné par l'étude de l'action des solutions hypertoniques conservées à une température suffisamment basse. Le

[8] Voir à ce sujet l'exposé d'ensemble et l'étude expérimentale de l'un de nous (14).

petit appareil à double paroi a servi pour ces expériences. Si la solution hypertonique dans laquelle plonge le nerf est refroidie aux environs de 0° on ne constate pas les phénomènes d'excitation observés à la température du laboratoire. Les muscles restent toujours au repos, même si le nerf est maintenu dans la solution pendant 30 minutes. Si, après le séjour dans la solution refroidie, on retire le nerf et on le laisse exposé à la température ambiante, les contractions se montrent aussitôt. Le nerf, imprégné par la solution, manifeste alors sa réaction. Il n'est pas facile de déterminer d'une manière suffisamment approchée la limite inférieure des températures auxquelles les réactions se produisent. Dans quelques cas, on n'a pas observé des réactions déjà à 17°, mais dans une des expériences il y a eu des réactions faibles à 12°, dans une autre à 15°. Dans un autre type d'expériences, on plongeait le nerf dans le bain à une température élevée, on observait les contractions et ensuite on refroidissait progressivement le bain. Les contractions disparaîssaient aussitôt que la température devenait suffisamment basse.

Des expériences faites avec des spécimens de *Rana pipiens* venus d'Amérique du Nord, ont donné des résultats semblables.

Devant tous ces résultats, étant sûrs que les solutions de NaCl à 10 p. 100 ne donnent lieu à aucune réaction du nerf si la température est assez réduite, rien ne nous empêchait plus d'employer ces solutions dans l'appareil à refroidissement. La technique est la même que celle que nous avons déjà décrite, le liquide de Ringer étant remplacé par la solution hypertonique. On peut ainsi facilement avoir le bain réfrigérant à des températures de 6 ou même 9° au-dessous de 0° (22).

Nous avons, tout d'abord, fait quelques expériences de contrôle. Dans la préparation moelle-train postérieur, on détruisait la moelle: la colonne vertébrale, plongée dans le bain refroidi à quelques dégrés au-dessous de 0°, y était laissée pendant 10 à 15 minutes. Il n'y avait aucune réaction. Dans une autre série d'expériences, une fois faite la préparation, on liait, à la sortie de la colonne vertébrale, les nerfs d'un côté. Les réactions convulsives de l'attaque produites par le refroidissement de la moelle ne se montraient que du côté intact; la patte dont les nerfs étaient liés, quoique ceux-ci fussent en partie plongés dans la solution, restait au repos.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

1. Toutes les tentatives précédémment faites par les chercheurs dans le sens d'obtenir une attaque épileptiforme d'origine purement spinale avaient échoué. Les excitations mécaniques, chimiques ou électriques de la moelle ne donnaient rien de semblable à une épilepsie.

2. Nous avons repris la question des excitations électriques et nos résultats aussi furent négatifs. On peut donc trouver surprenant de constater que le refroidissement brusque de la moelle isolée des Grenouilles sud-américaines (*Leptodactylus ocellatus*), donne lieu à une attaque épileptiforme très intense. Le mémoire actuel est le premier d'une série de travaux d'ensemble sur cette question, à laquelle nous avions jusqu'içi consacré seulement des notes éparses.

3. On trouvera dans ce travail une description détaillée des techniques de préparation de système nerveux isolé.

4. Pour refroidir brusquement la moelle ou le système nerveux intégral isolés, on peut employer trois méthodes principales: celle du bain réfrigérant, celle du jet de chlorure d'éthyle, celle de l'action directe de la neige carbonique. On trouve dans ce mémoire la description de toutes ces techniques.

5. Dans la technique du bain, on employe pour les températures au-dessus de 0°, une solution physiologique isotonique, et au-dessous de 0°, des solutions hypertoniques dont le Δ est très bas. Nous avons exposé les recherches qui nous permettent d'affirmer qu'à des températures basses, les solutions hypertoniques de NaCl n'exercent pas d'action stimulante sur le nerf moteur. La deshydratation générale de la Grenouille réduit de beaucoup aussi l'action excitante sur les nerfs, éxercée par les solutions salines hypertoniques.

RESUMO E CONCLUSÕES

1. Todas as tentativas anteriormente feitas pelos pesquizadores no sentido de obterem um ataque epileptiforme de origem puramente espinhal tinham dado resultados negativos. As excitações mecanicas, químicas ou elétricas da medula nada produziam de semelhante às convulsões epilepticas.

2. Retomámos a questão das excitações elétricas e nossos resultados tambem foram negativos. É, por tudo isso, surpreendente verificar o fato de que o resfriamento brusco da medula isolada da rã sul-americana (*Leptodactylus ocellatus*), dá logar a um ataque epileptiforme muito intenso. A memória atual é a primeira de uma série de trabalhos de conjunto sobre essa questão, à qual até agora consagrámos apenas uma série de pequenas notas.

3. Acha-se neste trabalho a descrição minuciosa das técnicas de preparação de sistema nervoso isolado.

4. Para resfriar bruscamente a medula ou o sistema nervoso integral isolados, podem ser empregados tres métodos principais: o do banho refrigerante, o do játo de cloreto de etila e o da ação direta da neve carbônica. Tais técnicas são pormenorisadamente descritas nesta memoria.

5. Na técnica do banho, emprega-se para as temperaturas acima de 0° uma solução fisiológica isotônica, e abaixo de 0°, soluções hipertônicas cujo Δ é muito baixo. Expuzemos os resultados de pesquizas que nos permitem afirmar que, em temperaturas muito baixas, as soluções hipertônicas de NaCl não exercem ação estimulante sobre o nervo motor. A desidratação geral da rã tambem de muito reduz a ação excitante sobre os nervos, normalmente verificada no caso das soluções salinas hipertônicas.

BIBLIOGRAPHIE

1 — BAGLIONI, S., 1904, La fisiologia del midollo spinale isolato. *Z. allg. Physiol.*, 4: 384-437.

2 — BAGLIONI, S., 1909, L'eccitabilità diretta dei centri nervosi agli stimoli artificiali. *Z. allg. Physiol.*, 10: 87-136.

3 — BIKELES, G., 1920, Versuche über die Wirkung der an der lumbo-sakralen gegend der Wirbelsäule applizierten Wechselströme I. Einige Konstatierungen betreffend Reflex. Opisthotonus und Krampferscheinungen (tonish evtl. klonish) an der vorderen Extremitäten beim Kanischen (und Hund). *Pflüg. Arch. ges. Physiol.*, 182: 173-177.

4 — BROWN-SÉQUARD, 1858, Note sur des faits nouveaux concernant l'épilepsie consécutive aux lésions de la moelle épinière. *J. Physiol. de l'homme et des animaux*, 1: 472-478.

5 — BROWN-SÉQUARD, 1892, Notes sur quelques faits nouveaux relatifs à la physiologie de l'épilepsie. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 115: 394-397.

6 — HEUBEL, E., 1874, Das Krampfzentrum des Frosches und sein Verhalten gegen gewisse Arzeneistoffe. *Pflüg. Arch. ges. Physiol.*, 9: 263-323.

7 — HOFFMANN, F., HOLZLÖKNER, E. & LEEGAARD, F., 1932. Die Wärmbildung des überlebenden Froschrükenmarkes. I Mitt. Versuche mit direkter elektrischer Reizung. *Z. Biol.*, 93: 108-120.

8 — LAPINSKY, M., 1899, Uber Epilepsie beim Frosche. *Pflüg. Arch. ges. Physiol.*, 74: 47-96.

9 — LAPINSKY, M., 1913, [Sur le rôle de la moelle épinière dans les convulsions épileptiques). *Vratchebnaia Gazeta*, 20: 519-523. Anal. *in J. Physiol. Path. gén.*, 1913, 15: 951-952.

10 — LAPINSKY, M., 1920, Zur Frage der Rolle des Rückenmarks bei epileptischen Krämpfen., *Neurol. Zbl.*, 39: 324-332.

11 — LUCIANI, L., 1923, *Fisiologia dell'uomo.* (6.ª ed.), 3.º vol., Milano (*cf.* pp. 707-716).

12 — MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS, M., 1938, Sur une attaque convulsive produite par l'excitation chimique directe de la moelle épinière chez la Grenouille brésilienne. *C. R. Soc. Biol., Paris,* 129: 995-997.

13 — OVERTON, E., 1904, Beiträge zur allgemeinen Muskel-und Nervenphysiologie. III Mitt. Über die Wirkung der Alkali-und Erdalkalisalze auf Skelettmuskeln und Nerven. *Pflüg. Arch. ges. Physiol.*, 105: 176-290.

14 — OZORIO DE ALMEIDA, M., 1926, Sur les effets de la déshydratation des Batraciens produite par la ventilation. *J. Physiol. Path. gén.*, 24: 243-249.

15 — OZORIO DE ALMEIDA, M., 1932, Expériences sur l'éxécution et la coordination des mouvements dans les réflexes cutanés de la Grenouille. *C. R. Soc. Biol., Paris,* 109: 452-454.

16 — OZORIO DE ALMEIDA, M., 1934, Sur une attaque épileptiforme produite par le refroidissement brusque de la moelle de la Grenouille. *C. R. Soc. Biol., Paris,* 115: 78-80.

17 — OZORIO DE ALMEIDA, M., 1935, Sur une préparation contenant le système nerveux central isolé de Grenouille. *C. R. Soc. Biol., Paris.* 118: 716-718.

18 — OZORIO DE ALMEIDA, M. & MOUSSATCHÉ, H., 1936, L'excitation électrique directe de la moelle épinière chez la Grenouille ne produit pas des attaques épileptiformes. *C. R. Soc. Biol., Paris,* 121: 774-776.

19 — OZORIO DE ALMEIDA, M., MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS, M., 1938, Quelques préparations de système nerveux isolé employées en Physiologie et Pharmacodynamie, *in Livro Jubilar do Prof. L. Travassos,* Rio de Janeiro, pp. 359-365.

20 — OZORIO DE ALMEIDA, M., MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS, M., 1938, Sur le refroidissement brusque de la moelle épinière par l'action du chlorure d'éthyle et son utilisation comme technique de l'étude de l'attaque épileptiforme. *C. R. Soc. Biol., Paris,* 128: 217-220.

21 — OZORIO DE ALMEIDA, M., MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS, M., 1938, Sur quelques condictions d'action des solutions concentrées de chlorure de sodium sur les nerfs. *C. R. Soc. Biol., Paris,* 129: 422-424.

22 — OZORIO DE ALMEIDA, M., MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS, M., 1938, Sur l'emploi des solutions concentrées de NaCl dans les recherches sur l'attaque épileptiforme par refroidissement brusque de la moelle. *C. R. Soc. Biol., Paris,* 129: 424-426.

23 — OZORIO DE ALMEIDA, M., MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS, M., 1941, Action de la température sur le maintien et la résistence des réflexes de la préparation moelle-train postérieur de la Grenouille. *Rev. Brasil. Biol.*, 1 (1): 95-102.

24 — WILSON, KINNIER, 1926, A lecture on the epilepsies. *Brit. med. J.*, 1926 (II): 1-6.

25 — WINTERSTEIN, H., 1907, Über den Mechanismus der Gewebsatmung Versuche am isolierten Froschrückenmark. *Z. allg. Physiol.*, 6: 316-392.

26 — WINTERSTEIN, H., 1938, Methoden zur Untersuchung des überlebenden Zentralnervensystems. *Abderhalden Handb. biol. ArbMeth.*, 5 (5B); 427-462.

Rev. Brasil. Biol., 1 (2): 179-194
Junho, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

RECHERCHES SUR L'ATTAQUE ÉPILEPTIFORME PRODUITE PAR LE REFROIDISSEMENT BRUSQUE DE LA MOELLE ÉPINIÈRE

Mémoire deuxième. — Étude physiologique du phénomène chez le "Leptodactylus ocellatus" des environs de Rio de Janeiro [1]

MIGUEL OZORIO DE ALMEIDA, H. MOUSSATCHÉ et M. VIANNA DIAS

Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

(Avec 5 figures)

Nous avons vu, dans le mémoire antérieur (24), que l'on n'avait pas réussi à obtenir des attaques épileptiformes d'origine purement spinale. Le refroidissement lui-même avait été employé dans plusieurs cas, toujours avec des résultats négatifs.

Quelques auteurs avaient, en effet, dans des buts différents fait des expériences de refroidissement de la moelle, mais aucun de ces chercheurs ne signale des réactions convulsives épileptiformes. Ainsi Raphael Dubois (8) a congélé la moelle mise à nu chez le Lézard, en employant le chlorure d'éthyle, sans observer aucun mouvement. Trendelenburg (29) a créé une méthode de section physiologique de la moelle épinière par le refroidissement chez les Mammifères. Entre autres avantages, il insiste toujours sur l'absence de tout phénomène d'excitation. Beaman et Davis (4) n'ont pas observé, eux aussi, des phénomènes d'excitation pendant le refroidissement de la moelle.

Tarchanoff et Freusberg avaient constaté que les réflexes médullaires chez la Grenouille se montrent augmentés et éxagérés si le dos de l'animal est refroidi par l'application d'un morceau de glace. Biedermann (5) a montré que cette hyperexcitabilité se trouve toujours à une température assez basse, surtout dans la période de réchauffement de l'animal. Baglioni (2, 3), en travaillant avec sa préparation de la moelle isolée, a pu maintenir, dans plusieurs expériences, la moelle à des températures de 2 ou 3° au-dessus de 0° et, dans aucun de ses mémoires, il ne signale des réactions convulsives.

Amantea (1) a fait des recherches sur l'effet des changements brusques de la température de la moelle isolée du Crapaud. En protégeant la moelle par une couche isolante, il laissait tomber sur elle des gouttes de chlorure d'éthyle. La température pouvait descendre à quelques dégrés au-dessous de 0°. Aussi bien les préparations normales que les préparations à excitabilité augmentée par la strychnine n'ont jamais montré des phénomènes d'excitation.

---

[1] Reçu le 9 Mai 1941.
Travail du Laboratoire de Physiologie de l'Institut Oswaldo Cruz.

En ce qui concerne l'action générale convulsive du froid, on peut trouver dans la littérature quelques indications intéressantes, quoique épisodiques et, à cause de cela même, complètement oubliées. Ainsi, dans une description donnée par DESGENETTES de la mort des hommes due au froid (7), on peut lire:

> "... tous les muscles du cou et particulièrement les sterno-mastoïdiens se raidissaient et fixaient peu à peu la tête à droite ou à gauche; la raideur gagnait le tronc; les membres abdominaux fléchissaient alors et ces hommes tombaient à terre, offrant tous les symptômes de la catalepsie ou de l'épilepsie".

MAURELL et LAGRIFFE (10, 11) constatent que les poissons refroidis à quelques dégrés au-dessus de 0° peuvent présenter des convulsions. A 2 ou 4 dégrés au-dessous de 0°, les phénomènes convulsifs sont très fréquents [2].

Nous ne pourrons pas faire ici un exposé des recherches qu'a donné lieu l'action du froid sur les nerfs. Il nous suffira de rappeler que les auteurs ont, en majorité, trouvé des résultats négatifs, quant à la possibilité d'obtenir des effets d'excitation. Il faut cependant remarquer que, si le froid en lui-même ne constitue pas une cause directe d'excitation des nerfs, il produit des altérations de l'excitabilité. Les travaux classiques d'ENGELMANN, FRIEDRICH, HERING, PFLÜGER, VON FREY, ont bien mis en évidence ces altérations, surtout à propos des tétanos de fermeture et d'ouverture.

D'autre part, il ne faudrait pas confondre l'action du froid avec la brusque congélation du nerf. Celle-ci donne toujours lieu à des phénomènes d'excitation, étudiés par TAIT (28). D'après les recherches de BOYD et H. N. ETS (6), le nerf conserve la conductibilité jusqu'au moment de la congélation, qui se produit à une température variable avec la méthode de refroidissement. Nous avons déjà signalé dans le mémoire antérieur (24) les effets excitants d'une congélation brusque par le chlorure d'éthyle. On enregistre des secousses au moment de la congélation, mais ces secousses sont brèves et disparaissent aussitôt sans offrir aucune ressemblance avec des attaques épileptiformes. Comme nous l'avons montré, quant à l'action des solutions refroidies, nous n'avons jamais observé des phénomènes d'excitation, même si les solutions sont très fortement hypertoniques (22).

Il serait déplacé de faire ici une étude des phénomènes de rythmicité des nerfs périphériques ou des cellules elles-mêmes, si bien étudiés ces dernières années par plusieurs physiologistes, au moyen des méthodes précises d'inscription des variations de potentiel électrique. Au moment de discuter le mécanisme possible de production de l'attaque épileptiforme, nous chercherons à voir clair dans la question des rapports réciproques de ces deux ordres de phénomènes.

Description de l'attaque — Nous commencerons par un exposé des phénomènes comme ils se présentent chez le *Leptodactylus ocellatus* des environs de Rio de Janeiro. Dans un autre mémoire, nous ferons

---

[2] Nous laisserons ici de côté les travaux des physiologistes russes à la suite des recherches d'OPENCHOWSKY (SFERANSKY, ASTAPOW, BOBKOW, GALKIN, etc.), sur les effets de la congélation des régions motrices corticales. Les convulsions ne sont constatées qu'un certain temps, assez considérable d'ailleurs, après la congélation. Ces effets ne sont pas dus à l'action du froid, mais aux altérations qui en résultent. D'ailleurs, CH. RICHET, avait déjà constaté: "Quelques fois, après que la surface du cerveau a été congelée, on observe des phenomènes convulsifs, mais pendant la période de congélation la cellule nerveuse ne repond plus à l'excitation" (27). De son côté, FR. FRANCK avait montré que le refroidissement de la région motrice corticale abolit l'aptitude épileptique, c'est-à-dire, qu'il devient impossible, dans ces conditions, de produire par des excitations électriques, l'attaque d'épilepsie corticale (9).

la description des caractères de l'attaque chez les *Leptodactylus ocellatus* d'autres régions de l'Amérique du Sud [3].

À Rio de Janeiro l'attaque ne manque jamais dans les conditions normales, c'est-à-dire, si la température atteinte par la moelle ne dépasse pas la limite supérieure dont nous parlerons après, et si l'on ne fait pas agir une substance empêchante ou une cause déterminée d'inhibition. À l'observation directe, on voit que la forme, la durée et l'intensité de l'accès convulsif peuvent présenter des variations individuelles. Il y a, cependant, un type d'attaque qui se montre le plus fréquemment (14).

Une fois la moelle plongée dans le bain réfrigérant, pendant un certain temps il n'y a aucune réaction. Cette période, que nous appelerons la *période latente,* est variable avec les conditions de l'expérience. L'attaque elle-même est précédée par des secousses fibrillaires des muscles, surtout de la partie supérieure de la cuisse. Ces secousses se montrent de plus en plus fortes, deviennent des secousses d'ensemble des muscles et se fusionnent progressivement en une phase tonique. Pendant cette phase tonique il y a une prédominance des extenseurs et, en conséquence, les membres postérieurs se montrent fortement étendus. Après quelques secondes, les muscles se relâchent complètement ou presque complètement et une autre période commence: c'est la phase des convulsions cloniques, dont l'intensité et la fréquence sont très grandes au début, pour diminuer ensuite jusqu'au repos complet. Dans quelques cas, les contractions cloniques à rythme lent et assez irrégulières peuvent persister assez longtemps. D'autres fois, après une période de repos, la moelle étant toujours maintenue dans le bain refroidi, on observe une reprise des contractions cloniques, irrégulières, à petite amplitude. Ces contractions peuvent être assez importantes pour mériter d'être considérées comme formant une nouvelle phase de l'attaque, que nous désignerons par *quatrième phase*.

Après l'attaque, les réflexes médullaires sont absents. Si l'on retire la moelle du bain réfrigérant et on la laisse à la température du laboratoire, les réflexes reviennent au bout de quelques minutes. Le retour des fonctions medullaires réflexes peut être très rapide si la moelle, aussitôt qu'on la retire du bain froid est plongée dans un bain de liquide de Ringer à 20° ou 22°. Quelquefois, alors, les réflexes se montrent déjà avant un délai d'une minute après la fin de l'attaque [4].

L'étude graphique de cette forme de l'attaque (16) montre les différentes périodes que nous venons de décrire, moins celle des trémulations fibrillaires ou des tremblements, qui, même assez forts, ne se traduisent pas par des contractions d'ensemble de la masse musculaire et

---

[3] Nous croyons qu'il serait inutile d'insister sur les expériences de contrôle destinées à démontrer qu'il s'agit bien, dans ce phénomène, d'une attaque dont le point de départ se trouve dans les centres médullaires.

[4] L'action de la température sur le comportement des réflexes dans la préparation moelle-train postérieur fait l'objet d'une série de mémoires indépendante publiés dans ce recueil même.

n'agissent pas convenablement sur le levier inscripteur du myographe (Fig. 1).

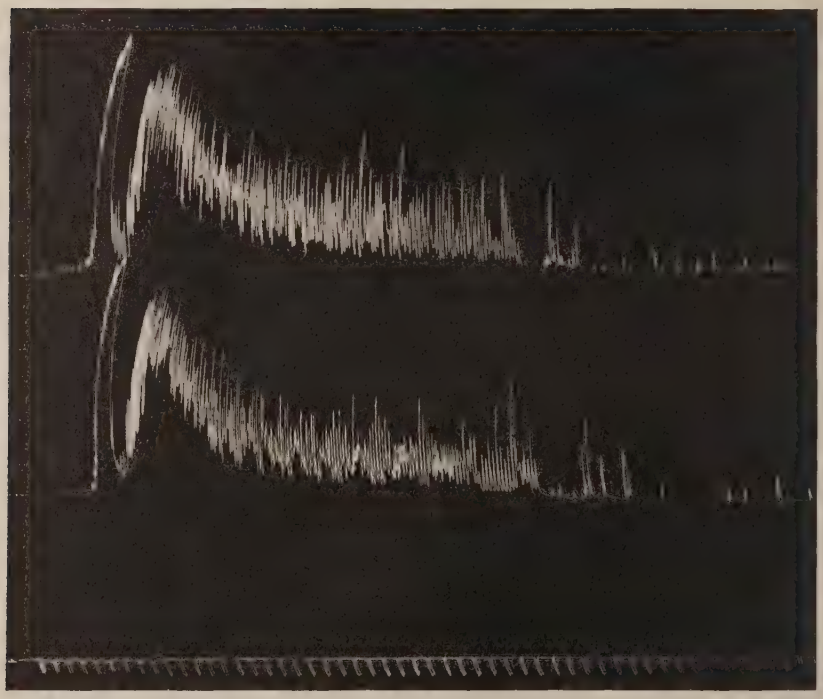


Fig. 1 — Tracé des contractions des muscles gastrocnémiens dans l'attaque produite par le refroidissement brusque de la moelle isolée. Méthode du bain refroidi. Température du bain: 5°. Période latente: 1',47". Ligne sup.: gastrocnémien droit. Ligne moyenne: gastrocnémien gauche. Ligne inf.: temps en secondes.

À la simple observation on voit déjà que les contractions cloniques et toniques qui constituent l'attaque se présentent à peu près symétriquement c'est-à-dire, sont simultanées et de même forme dans l'un et l'autre des membres postérieurs. Cette symétrie se traduit par des courbes très sensiblement égales des contractions des deux gastrocnémiens. D'ailleurs, nous avons fait quelques expériences qui mettent bien en relief ce fait. Les deux gastrocnémiens étaient réliés à un même levier myographique, chacun attaché d'un côté du levier et en opposition à l'autre. Le tracé doit donner donc les différences des contractions. Les contractions étant simultanées et de même forme, le tracé devrait être une ligne horizontale. En fait, les tracés montraient au début quelques oscillations d'une certaine amplitude, mais qui disparaîssaient aussitôt.

Chez les Grenouilles affaiblies par un séjour trop prolongé au laboratoire, sans aucune nourriture, l'attaque se montre, non seulement très réduite dans son intensité mais encore bornée à la phase tonique.

La période des convulsions cloniques peut s'affaiblir ou même disparaître.

Dans certains cas, d'ailleurs rares chez nous, la période des convulsions cloniques qui précède la phase tonique peut être très intense. On ne pourrait pas parler, alors, d'une phase tonique pure: les convulsions cloniques commencent, augmentent d'amplitude, passent par un maximum pendant lequel il y a une composante tonique et diminuent

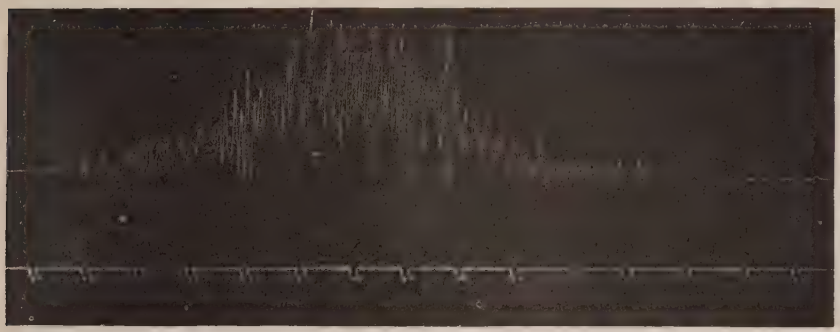


Fig. 2 — Attaque épileptiforme par le refroidissement. Contractions du gastrocnémien. Temps en secondes. Type très rarement observé chez les *Leptodactylus* de Rio de Janeiro.

ensuite pour disparaître à la fin. (Fig. 2). Dans quelques cas, la période tonique et la période clonique finale sont très nettement séparées par un intervalle d'environ deux secondes (Fig. 3); d'autres fois, elles se

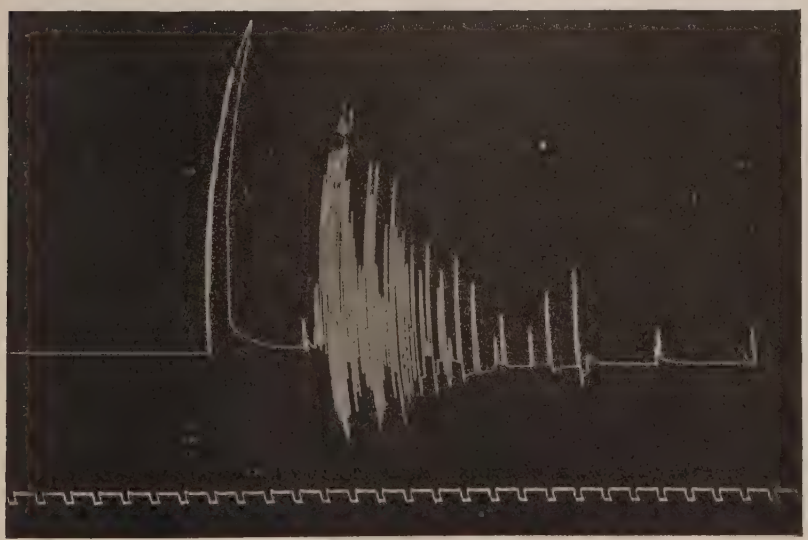


Fig. 3 — Attaque dans lequel il y a une séparation entre les phases tonique et clonique. Temp. du bain: 3°. Période latente: 1',5''. Temps en secondes.

suivent sans interruption et même les convulsions cloniques chevauchent sur la contraction tonique. La durée et l'intensité de la période clonique finale sont variables. En général, elle a une durée de 10 à 30 ou 40 secondes, et les contractions ont une amplitude un peu plus petite que celle de la période tonique. Mais il y a des cas où l'on observe, au début de cette phase clonique, des contractions qui arrivent à la hauteur de la contraction tonique. Très souvent, la phase clonique, nettement séparée de la contraction tonique, présente une nouvelle composante tonique.

La fréquence des contractions cloniques au début de l'attaque varie entre 7 et 13 par seconde. Il semble qu'elle dépend en partie de la température à côté d'une action possible d'autres facteurs.

On peut presque toujours obtenir une deuxième attaque, et même dans quelques cas, une troisième, si on a le soin de réchauffer la moelle après la prémière attaque, en la plongeant dans un bain de Ringer à la température du laboratoire. Dans ce cas, les réflexes reviennent aussitôt et on a le temps de répéter l'expérience avant que la moelle, dont les échanges respiratoires sont genés par le manque de circulation, ne perde son excitabilité.

Il y a cependant une manière d'obtenir avec une même préparation des séries d'attaques successives. On opère l'ouverture du canal vertébral une ou deux heures avant de faire la préparation moelle-train postérieur. Dans ces conditions, une fois la moelle plongée dans le bain réfrigérant, l'action de celui-ci se fait sentir beaucoup plus rapidement et la période latente se réduit à quelques secondes. Si, après l'attaque, on place la moelle dans un bain à la temperature du laboratoire, la récupération des fonctions médullaires se fait aussi dans des délais très courts. D'autre part, la moelle étant directement exposée, les échanges gazeux respiratoires sont rendus plus faciles et la durée des expériences peut être augmentée. Ainsi, dans une de nos expériences faites dans ces conditions, nous avons obtenu huit attaques successives données par une seule préparation. La colonne vertébrale avait été ouverte deux heures avant le début de l'expérience. La température du bain était proche de 0° (elle a varié entre 0°,2 et 2°,6, ayant monté un peu vers la fin de l'expérience). La prémière attaque fut très intense et prolongée. Cette intensité s'est réduite progressivement; la phase tonique disparaissait et les dernières attaques de la série sont purement cloniques. Parfois, l'on remarque qu'une des attaques de la série peut être plus forte que celle qui la précède, mais ensuite la réduction progressive reprend son cours.

Nous donnons dans la fig. 4 un tracé de la quatrième phase. L'attaque (dont nous reproduisons le tracé en B, dans la même figure) avait été produite par la méthode du bain à une température de 7°,3. Après une période de repos, les contractions ont recommencé, en augmentant d'intensité jusqu'à passer à une phase de réduction de l'amplitude. Cette phase a eu une durée de plus de 2 minutes.

Les préparations de système nerveux intégral donnent aussi des attaques épileptiformes identiques à celles que l'on obtient avec la préparation moelle isolée-train postérieur. Il y a certaines différences dans la durée de la période latente, mais on ne remarque de différences appréciables ni dans la forme ni dans succession des périodes de l'accès.

La description que nous venons de faire est basée essentiellement sur les observations faites dans les expériences avec le liquide de Ringer réfroidi, employé comme bain réfrigérant. La température du bain est donc supérieure à 0° ou, tout au plus, peut descendre à quelques di-

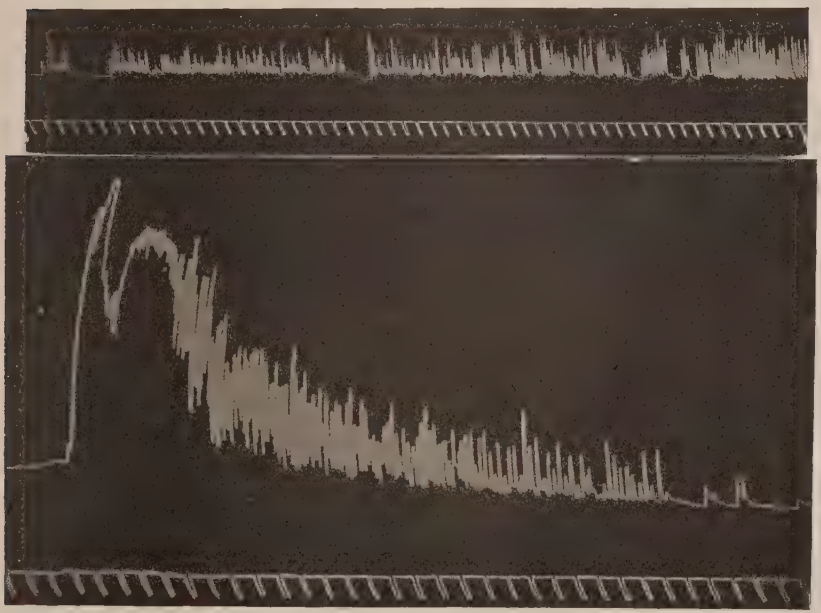
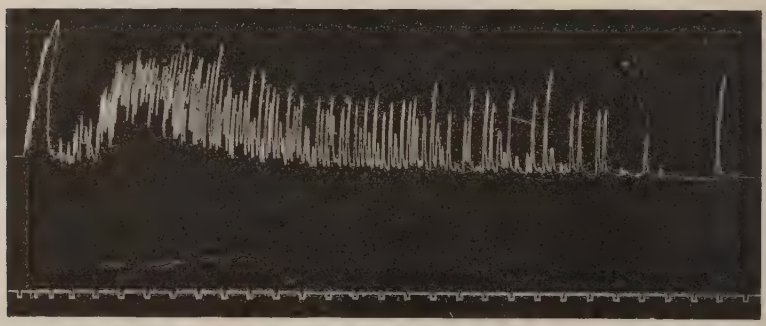


Fig. 4 — *A*. Quatrième phase de l'attaque par refroidissement. Temps en secondes. Contractions du gastrocnémien. *B*. Tracé de l'attaque qui a été suivie par la quatrième phase ci-dessus représentée.

xièmes de dégré au-dessous de 0°. Quand on fait l'expérience en employant comme bain réfrigérant les solutions hypertoniques de NaCl à 20 p. 100 et que l'on descend à des températures pouvant aller jusqu'à -6° ou -7°, l'attaque épileptiforme présente les mêmes phases: une période initiale de tremblements, la phase tonique et la phase clonique (23). Sans être pourtant caractérisée par des différences qualitatives, elle se distingue par plusieurs différences d'intensité. Elle est plus forte et plus prolongée, la période latente est de beaucoup plus réduite. La moelle étant rétirée du bain réfrigérant et plongée dans un bain de Ringer à la température du laboratoire, les reflèxes revien-

nent, à moins qu'elle ne soit restée trop longtemps à une température trop basse. Dans quelques cas, il a été même possible d'obtenir une deuxième attaque, dans les préparations à colonne vertébrale fermée.

L'attaque produite par le jet de chlorure d'éthyle présente, en général, les mêmes caractères que celles que l'on obtient par le refroidissement de la moelle plongée dans le bain de Ringer refroidi (20). La fig. 5 reproduit la forme la plus habituelle de l'attaque par cette technique. La composante tonique de la phase clonique, que existe aussi dans les attaques produites au moyen des autres techniques, nous semble plus fréquente dans l'attaque dûe au chlorure d'éthyle. Dans l'un et l'autre cas, elle peut être le résultat de la grande fréquence des



F.g. 5 — Attaque épileptiforme produite par un jet de chlorure d'éthyle sur la colonne vertébrale isolée. En haut: contractions du gastrocnémien. En bas: temps en secondes.

secousses qui tendent à se fondre dans une contraction tétanique. Quelquefois, la phase tonique initiale ne se montre pas d'une manière aussi nette que celle que l'on voit sur la figure. Souvent, après un affaiblissement des contractions cloniques, elles reprennent leur amplitude, donnant une sorte de nouvelle attaque. Aussi bien que pour les autres techniques de refroidissement, après l'attaque produite par le jet de chlorure d'éthyle, en réchauffant la moelle à la température du laboratoire, les réflexes reviennent, ce qui démontre que les centres n'ont pas été fonctionnellement détruits par le froid. La préparation de système nerveux intégral donne aussi, sous l'action du chlorure d'éthyle, des attaques avec les caractères habituels.

La technique du chlorure d'éthyle nous a permis d'étudier l'attaque présentée par les membres antérieurs, ce qu'il serait impossible de faire avec la technique du bain réfrigérant. Nous avons utilisé la préparation de la colonne vertébrale isolée, à laquelle on laissait réliés les membres postérieurs et les membres antérieurs. Dans la plupart des cas, les convulsions des membres antérieurs, ne commencent pas exactement au même moment que celles des membres postérieurs. Cela est dû, sans aucun doute, à l'inégalité du refroidissement, puisque l'ordre de succéssion est essentiellement variable. D'ailleurs, nous

verrons plus tard, que les expériences faites sur d'autres espèces animales nous permettent de confirmer cette explication. Dans les membres antérieurs, l'attaque est souvent limitée à une extension tonique, suivie d'une flexion tonique aussi et très soutenue. Dans certains cas, il n'y a que des convulsions cloniques. Enfin, dans un bon nombre de cas, on constate les mêmes périodes que celles que l'on trouve dans les membres postérieurs: tremblements fibrillaires, phase tonique, phase clonique.

Une fois faite la description générale de l'attaque, nous passerons maintenant à l'étude plus détaillée des éléments du phénomène et de l'action de plusieurs facteurs.

Influence de l'arrachement de la peau (26). — L'un de nous a établi en collaboration avec H. Piéron (25) le rôle de la peau et des excitations cutanées dans le maintien du tonus des centres nerveux. Ces résultats furent complétés et développés dans des travaux postérieurs (12, 13). Il était donc indiqué de verifier si l'arrachement préalable de la peau avait quelque influence sur l'épilepsie spinale. Quatorze expériences ont été réalisés, la peau de la Grenouille ayant été arrachée à des temps variables avant l'essai. L'attaque se produit chez les Grenouilles écorchées et en état de coma. Il y a eu deux exceptions uniques. Dans l'une, l'arrachement de la peau avait précédé d'une heure l'expérience proprement dite. Dans l'autre cas, l'intervalle a été d'une heure et quarante minutes. Mais, dans d'autres cas, après des intervalles tout aussi grands, on a obtenu des attaques fortes et normales.

Dans quelques expériences, nous avons arraché seulement la peau qui recouvre l'une des pattes, depuis la racine de la cuisse, jusqu'à l'extrémité des doigts. Le tonus musculaire était aboli du côté opéré et conservé de l'autre; les reflèxes aussi n'existaient que du côté où la peau a été conservée. L'attaque s'est produite normalement, la patte écorchée se comportant exactement comme la patte normale.

Influence de la section des racines postérieures (17). — La question se posait de savoir si l'attaque épileptiforme par refroidissement serait encore possible après l'élimination de toutes les excitations afférentes obtenu par la section des racines postérieures.

Les prémières expériences nous ont montré qu'il y avait une difficulté technique à écarter. Chez nous, dans les conditions habituelles, dans le cas des Grenouilles, la durée de l'excitabilité de la moelle après isolement est assez réduite. Des résultats négatifs laisseraient donc subsister un doute, à savoir: l'impossibilité de produire l'attaque serait-elle due à un manque d'action des excitations afférentes conduites par les racines postérieures, ou s'agirait-il d'une inhibition, d'un état de choc, en d'autres termes d'une réduction de la capacité médullaire de réaction?

Pour écarter un tel doute, nous avons fait les expériences d'une manière différente. On opérait l'ouverture du canal vertébral et la section des racines postérieures (VIII, IX, X) quelques heures avant l'expé-

rience, en anesthésiant les animaux par l'éther. Pour cela, nous avons employé la méthode décrite par l'un de nous en collaboration avec Branca de A. Fialho (15), pour l'anesthésie des Grenouilles. Nous rappelons ici sommairement en quoi consiste cette méthode.

On fixe dans la glotte de la Grenouille une canule réliée par un tube en caoutchouc à l'un des flacons d'un système de vases communicants. Ce flacon contient de l'éther mélangé à de l'air et l'on peut faire des insufflations des poumons avec le mélange anesthésiant.

L'avantage de la méthode pour notre cas actuel est évidente. Une fois opéré, la Grenouille est rapidement réveillée par des insufflations d'air atmosphérique pur. On laisse passer le temps nécessaire pour que toute trace de choc ou d'inhibition ait pu disparaître, et l'on peut constater si l'animal conserve son excitabilité médullaire. En effet, chez tous nos animaux il y avait non seulement impossibilité de tout réflexe à point de départ localisé dans le train postérieur, dont les racines sensitives étaient coupées, mais aussi une ataxie complète des mouvements volontaires. Mais la persistance de ces derniers, comme aussi la possibilité de produire des réactions des pattes postérieures en excitant les membres antérieurs, nous assuraient du bon état des réactions médullaires. Quelques heures après l'opération on fait la préparation moelle isolée-train postérieur.

Les Grenouilles dont les trois dernières racines postérieures ont été coupées [5] présentent des attaques épileptiformes quand la moelle est plongée dans le bain de Ringer refroidi. D'une manière générale, on peut dire que ces attaques sont plus faibles que l'attaque normale. Dans les bons cas, on remarque la même succession des phénomènes. Dans certains cas, il y a une prédominance de l'une des deux phases de l'attaque, la tonique ou la clonique, avec réduction considérable de l'autre. Cette variabilité des résultats à elle seule, nous démontre qu'il y a là des effets de choc ou de petites inhibitions dues à l'opération. Complète dans certains cas, réduite à l'une des phases ou à peine affaiblie dans d'autres, l'attaque existe toujours, et les modifications observées sont accidentelles.

Les expériences de section des racines postérieures, en completant celles de l'arrachement de la peau, nous démontrent que l'attaque d'épilepsie par refroidissement peut se produire indépendamment des excitations réflexes et résulter d'une action directe du froid sur les cellules de la moelle; elle n'a pas besoin, pour sa production, d'un état normal du tonus nerveux central. Nous verrons, cependant, que, à côté de cette attaque exclusivement centrale, on peut obtenir une attaque réflexe (18); aussi, nous montrerons que les excitations réflexes peuvent avoir une influence nette sur la forme et l'évolution du phénomène.

---

[5] Ce sont les seules qui intéressent l'innervation du train postérieur. D'ailleurs l'isolement de la moelle, reliée seulement au train postérieur, en empêchant de recevoir des excitations d'autres parties du corps, dispense de la section des autres racines postérieures.

L'attaque épileptiforme et la segmentation fonctionnelle de la moelle épinière. — Il nous fallait vérifier quelle est la portion de moelle épinière nécessaire pour que l'attaque se produise d'une manière complète et, en outre, quelles sont les modifications des caractères du phénomène, quand on élimine une certaine partie de la moelle.

La technique se présente d'elle-même d'une manière très simple quand on opère sur la colonne vertébrale isolée. Avec une lame Gillette, on peut couper la colonne vertébrale entre deux vertèbres quelconques. Nous désignerons le tronçon de la moelle restante par le nombre de vertèbres qui ont été laissées intactes.

En laissant huit ou sept vertèbres, il n'y a aucune modification ni dans les réflexes, ni dans l'attaque des membres postérieurs. Les altérations de l'un et de l'autre commencent quand on réduit la colonne aux six dernières vertèbres, c'est-à-dire, immédiatement au-dessous du point d'émergence du quatrième nerf spinal. En coupant la moelle à ce niveau, on laisse intacts tous les nerfs qui se rendent aux membres postérieurs. La section passe immédiatement au-dessous du renflement antérieur de la moelle. Mais il y a probablement des effets de choc ou d'inhibition dûs à l'opération. En effet, les réflexes se présentent le plus souvent affaiblis et bornés à la flexion du pied et de la jambe. Dans quelques cas, cependant, ils se montrent encore vifs et peuvent être plus étendus, avec une certaine participation des muscles de la cuisse. Quant à l'attaque, elle se présente le plus souvent faible, presque exclusivement clonique, avec des tremblements plus ou moins prolongés. On voit aussi parfois une composante tonique. Dans certains cas, l'attaque se montre asymétrique, commençant d'un côté, tandis que l'autre est encore en repos.

En laissant les cinq dernières vertèbres, la section passant au niveau de la sortie du cinquième nerf spinal, les altérations des phénomènes sont beaucoup plus marquées. Dans la moelle, la surface de section se trouve au niveau de la limite supérieure du renflement lombaire. Les réflexes se montrent réduits dans leur intensité et surtout dans leur étendue. En général, on observe à peine une flexion du pied sur la jambe. Dans quelques cas, la flexion de celle-ci sur la cuisse peut encore se faire, mais la cuisse elle-même reste immobile. L'attaque se produit encore, avec des tremblements et des contractions cloniques; mais ces contractions ne sont pas bornées aux muscles de la jambe et se montrent aussi dans les masses musculaires des cuisses.

En laissant seulement les quatre dernières vertèbres, la section passe par la partie inférieure du renflement lombaire. On n'observe plus rien; les réflexes sont absents, l'attaque ne se produit plus.

Origine médullaire de l'attaque obtenue dans les préparations de système nerveux intégral. — Il se présente la question de savoir si l'attaque que l'on obtient en refroidissant tout le système nerveux, comme il arrive dans les expériences où l'on emploie le système nerveux

intégral, est d'origine médullaire, ou si elle trouve son point de départ dans les centres supérieurs.

Dans les expériences consacrées à cette question, nous avons fait le refroidissement brusque des centres supérieurs, c'est-à-dire de l'encéphale, sans altérer sensiblement les conditions de température de la moelle épinière. Nous avons employé aussi bien la méthode du bain réfrigérant que celle du jet de chlorure d'éthyle.

Dans le premier cas, on opérait préalablement la destruction des labyrinthes de l'oreille interne (afin d'éviter l'intervention de réflexes labyrinthiques), et on mettait l'encéphale à nu. On plongeait l'encéphale dans le bain réfrigérant, en laissant au dehors toute la colonne vertébrale. Il était possible d'observer parfois un ou autre mouvement de réaction probablement volontaire, mais ces réactions disparaissaient bientôt. Après plusieurs minutes d'attente, on constatait que l'attaque ne se produisait pas. On plongeait alors tout le système nerveux dans le bain, la moelle était réfroidie et l'attaque survenait dans les délais habituels.

Avec le chlorure d'éthyle, les résultats sont parfaitement équivalents. En localisant l'action réfrigérante et en la bornant au crâne, sans que les conditions de température de la moelle soient changées, il n'y a jamais d'attaque. Celle-ci est obtenue dans la même préparation quand on étend le refroidissement à la colonne vertébrale.

Nous remarquerons dès maintenant que, si l'attaque n'a pas son point de départ dans l'encéphale, même quand on a affaire aux préparations de système nerveux intégral, cela n'implique pas que les centres supérieurs n'aient aucune influence sur l'évolution et les caractères de l'attaque. Nous verrons plus tard de quelle nature sont ces actions.

Limite supérieure de la température de production de l'attaque. — Au début de nos recherches, la question de la limite supérieure de la température se présentait d'une manière très simple. Nous avions conclu de nos expériences faites à une certaine époque de l'année, que cette limite se trouvait aux environs de 6° ou 7°. "A cette température, et même un peu au-dessus, on peut encore obtenir des attaques, mais ce résultat n'est pas absolument sûr. Dans quelques cas très rares, à 6° ou même à 5°,5, l'attaque ne s'est pas produite, tandis qu'à 5° ou au-dessous, on l'obtient toujours" (26).

Nos expériences postérieures (18, 19) nous ont montré que la limite supérieure n'est pas aussi basse. D'une manière générale, elle se trouve aux environs de 8°,5. Elle ne semble pas très fixe et à Rio de Janeiro on rencontre des différences saisonnières. Nous avons trouvé dans les époques chaudes de l'année, une limite qui peut s'approcher de 9°, tandis que pendant les mois de la saison fraîche elle peut être plus basse. Nous avons toutes raisons de croire que d'autres influences puissent se faire sentir et l'on peut s'attendre à ce que certaines variations soient dûes à des conditions déterminées du milieu.

Nous ne pouvons pour le moment que signaler ces résultats. La question de la limite supérieure s'est révélée d'une grande importance pour la question biologique générale de l'action de la température ambiente sur les réactions convulsives de la moelle, et elle présente des relations très étroites avec le problème de la durée de la période latente. Nous la reprendrons donc à propos de ces dernières questions.

Action des températures élevées sur la moelle isolée (26). — Dans les expériences que nous avons réalisées pour étudier ce point, la moelle a été plongée dans des bains de Ringer dont la température a varié de 37° à 46°. A ces températures élevées il n'y a jamais d'attaque épileptiforme. Souvent on observe quelques mouvements plus ou moins énergiques d'extension des pattes, ressemblant à des mouvements de défense. Cependant ils sont transitoires et restent isolés. Le tonus musculaire disparaît complètement au bout d'une minute à une minute et l'absence des réflexes et du tonus, la moelle était encore, après ce temps. Malgré un séjour de 20 minutes environs dans le bain chauffé, et l'absence des réflexes et du tonus, la moelle était encore, après ce temps, un peu excitable, ce qu'on constatait en plongeant une épingle dans le canal vertébral.

Influence de la vitesse de refroidissement (26). — Dans les conditions où nous nous étions placé dès le début, il s'est présenté une question qu'il a fallu étudier de près: l'attaque épileptiforme se produit-elle encore si, au lieu de refroidir brusquement la moelle, on le fait progressivement? Est-ce la valeur absolue de la température qui est importante pour la production du phénomène ou la vitesse du refroidissement y entre-t-elle pour quelque chose?

La solution complète de cette question ne pourra être donnée qu'après la connaissance d'une grande série de faits qui seront exposés dans d'autres mémoires. Nous n'enregistrerons ici que les résultats de première approximation.

On peut admettre, comme hypothèse de travail, que l'attaque se produit quand la moelle épinière atteint une température déterminée. Nous verrons que cette hypothèse trouve des confirmations intéressantes, mais à la condition que l'on considère cette température déterminée comme soumise à des variations dépendantes de plusieurs facteurs. Encore, même si l'on travaille avec des animaux de la même espèce, appartenant à des lots très homogènes, il y a certains faits qui démontrent l'action de ces facteurs. Ainsi, la vitesse du refroidissement exerce une influence sensible sur la production de l'attaque. Si, au lieu de plonger la moelle isolée dans un bain de Ringer refroidi, on la met dans un bain à une température franchement au-dussus de la limite supérieure de l'attaque, et l'on refroidit progressivement, de manière à atteindre des températures suffisamment basses, au-dessous de la limite supérieure, très souvent l'attaque ne se produit pas. Normalement, la préparation de la moelle isolée peut donner des attaques

très nettes, même si l'on fait l'expérience 15 minutes après l'isolement de la moelle. Ce temps pendant lequel l'attaque est possible est d'ailleurs variable avec la température extérieure. Dans une série d'expériences de contrôle, l'attaque se produisait d'une manière très affaiblie si l'on attendait 20 minutes, mais se faisait bien, après 15 minutes. Si l'on faisait progressivement le refroidissement en 11 ou 12 minutes, le plus souvent l'attaque manquait, ou se produisait avec des caractères très différents: beaucoup plus faible, sans phase tonique, les tremblements et les contractions cloniques dominant toute la scène. D'autre part, dans les cas où l'attaque se produit, cela se passe à des températures bien inférieures à la limite supérieure. Il est possible aussi, dans les cas où l'attaque se manifeste d'une manière avortée, à 4 ou 5°, d'obtenir une véritable attaque en retirant la colonne vertébrale du bain et en la soumettant à l'action immédiate d'un jet de chlorure d'éthyle.

Les effets du refroidissement progressif nous permettent d'expliquer plusieurs observations intéressantes. Si nous nous bornons aux faits constatés chez nos Grenouilles, nous pouvons dire, comme règle générale, que l'animal de taille moyenne ou grande, étant placé entier dans de l'eau refroidie, mêmes à des températures très proches de 0°, ne présente jamais des attaques. Evidemment il faut, dans ces conditions, un certain temps pour que la température de la moelle soit descendue à des valeurs assez basses. La masse de l'animal empêche le refroidissement brusque. La chûte de la température se fait beaucoup plus lentement, l'attaque ne se produit pas. Avec les très petites Grenouilles ou dans le cas des Raînettes, on peut observer des attaques simplement en plongeant l'animal dans un bain refroidi. Le refroidissement par le chlorure d'éthyle peut aussi donner ou ne pas donner lieu à des attaques, suivant la taille de l'animal, quand on opère sur l'animal entier, comme nous l'avons déjà signalé dans le mémoire antérieur.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

1. Les auteurs donnent dans ce mémoire une description de l'attaque épileptiforme produite par le refroidissement brusque de la moelle isolée ou du système nerveux intégral du *Leptodactylus ocellatus* des environs de Rio de Janeiro. Cette description qui comprend les types les plus habituels du phénomène est basée sur les résultats de l'observation directe et l'examen des tracés myographiques.

2. A côté des phénomènes qui se passent dans les membres postérieurs, nous avons décrit les aspects que prend l'attaque observée dans les membres antérieurs.

3. L'arrachement total de la peau, c'est-à-dire, l'abolition des excitations cutanées, qui jouent un rôle très important dans le maintien du tonus général du système nerveux, n'empêche pas la production de l'attaque.

4. La section préalable des racines postérieures n'empêche pas la production de l'attaque par le refroidissement brusque de la moelle. L'attaque résulte donc d'une action directe du froid sur les centres médullaires, mais cela ne veut pas dire que les actions réflexes soient sans action sur les phénomènes, comme on le montrera dans un autre mémoire.

5. Des expériences systématiques de sections transversales de la moelle, nous ont permis d'établir quels sont les segments médullaires nécessaires à la production de l'attaque, et quelles sont les altérations montrées par les phénomènes à mesure qu'on écourt la moelle épinière.

6. Dans les préparations de système nerveux intégral, l'attaque est, elle-aussi, d'origine médullaire.

7. La limite supérieure de la température de production de l'attaque est de 8°,5, pour le *Leptodactylus* de Rio de Janeiro. Cette limite peut présenter des variations dûes à des influences diverses.

8. La moelle isolée soumise à une brusque élévation de température, ne présente pas de réactions convulsives.

9. Si le refroidissement de la moelle est fait lentement et progressivement, l'attaque ne se produit pas, ou alors se montre très altérée et affaiblie dans des températures sensiblement plus basses que la limite supérieure. On peut parler d'une inéfficacité de l'action progressive du refroidissement.

RESUMO E CONCLUSÕES

1. Os autores dão nesta memória uma descrição do ataque epileptiforme produzido pelo resfriamento brusco da medula isolada ou do sistema nervoso integral do *Leptodactylus ocellatus* das cercanias do Rio de Janeiro. Tal descrição, que compreende os tipos mais habituais do ataque, é baseada sobre os resultados da observação direta e o exame dos traçados miográficos.

2. Ao lado dos fenômenos que se passam nos membros posteriores, descrevemos tambem os aspetos que toma o ataque nos membros anteriores.

3. O arrancamento total da pele, quer dizer, a abolição das excitações cutâneas que representam papel muito importante na manutenção do tonus nervoso geral, não impede a produção do ataque.

4. A seção prévia das raizes posteriores não impede a produção do ataque pelo resfriamento brusco da medula. O ataque resulta pois de uma ação direta do frio sobre os centros medulares, mas não quer isso dizer que as ações reflexas fiquem sem ação sobre o fenômeno, como será mostrado em outra memória.

5. Experiências sistemáticas de seções transversais da medula permitiram estabelecer quais são os segmentos medulares necessários para a produção do ataque, e quais são as alterações que apresentam os fenômenos à medida que a medula é encurtada.

6. Nas preparações de sistema nervoso integral, o ataque é tambem de origem medular.

7. O limite superior de temperatura de produção do ataque é de 8°,5 C. no caso do *Leptodactylus* do Rio de Janeiro. Tal limite pode apresentar variações devidas a influências diversas.

8. A medula isolada submetida a uma brusca elevação de temperatura não apresenta reações convulsivas.

9. Se o resfriamento da medula é feito lenta e progressivamente, o ataque não se produz, ou então mostra-se muito alterado e enfraquecido, dando-se em temperaturas sensivelmente mais baixas que o limite superior. Pode-se falar de uma ineficácia da ação progressiva do resfriamento.

BIBLIOGRAPHIE

1. AMANTEA, G., 1919, Effetti delle variazioni termichi sui centri nervosi. *Arch. di Fisiol.*, 17: 67-81.

2. BAGLIONI, S., 1904, La fisiologia del midollo spinale isolato, *Z. allg. Physiol.*, 4: 384-437.

3. BAGLIONI, S., 1907, *Zur Analyse des Reflexfunktion*, Wiesbaden.

4. BEAMAN, G. B. & DAVIS, H., 1931, Block of spinal cord produced by cold. *Am. J. Physiol.*, 98: 399-405.

5. BIEDERMANN, W., 1900, Beiträge zur Kenntnis der Reflexfunktion des Rückenmarks. *Pflüg. Arch. ges. Physiol.*, 80: 408-468.

6. BOYD, T. E. & ETS, H. U., 1934, Studies on cold block in nerve. I. Block with and without freezing. *Am. J. Physiol.*, 107: 76-84.

7. DESGENETTES, cit. J. Athanasiu et J. Carvallo *in* Ch. Richet: Diction, de Physiologie, Paris, 1898, 3º vol., pag. 249.

8. DUBOIS, R., 1893, Sur les mouvements de la queue coupée du Lézard anesthésié. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 45: 915-917.

9. FRANÇOIS-FRANK, CH. A., 1883, Note sur quelques résultats d'expériences de refrigération artificielle médiate, progressive — 1º Courbes d'abaissement de la température profonde. — 2º Comparaison des températures superficielle et profonds. — 3º État de la circulation et de l'nnervation modératrice du coeur. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 35: 108-117.

10. MAUREL & LAGRIFFE, 1899, Détermination et action des plus basses températures compatibles avec la vie de certains poissons. *C. R.. Soc. Biol., Paris*, 51: 875-878.

11. MAUREL & LAGRIFFE, 1899, Action comparée de la chaleur et du froid sur certains poissons. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 51: 915-918.

12. OZORIO DE ALMEIDA, M., 1926, Sur le rôle des excitations d'origine cutanée dans le maintien de l'activité du système nerveux. *J. Psychol. norm. path.*, 23: 759-771.

13. OZORIO DE ALMEIDA, M., 1930, O papel da pelle e das excitações cutaneas nas funcções de regulação nervosa, *Arch. Soc. Biol. Montevidéo*, 2: 187-198.

14. OZORIO DE ALMEIDA, M., 1934, Sur une attaque épileptiforme produite par le refroidissement brusque de la moelle de la Grenouille. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 115: 78-80.

15. OZORIO DE ALMEIDA, M. & FIALHO, B. DE A., 1923, Sur l'anesthésie des Grenouilles. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 89: 1258-1259.

16. OZORIO DE ALMEIDA, M. & MOUSSATCHÉ, H., 1936, Étude graphique de l'accès épileptiforme produite chez la Grenouille par le refroidissement brusque de la moelle et du systéme nerveux intégral. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 121: 586-589.

17. OZORIO DE ALMEIDA, M. & MOUSSATCHÉ, H., 1936, Influence de la section des racines postérieures sur l'épilepsie spinale de la Grenouille. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 121: 783-784.

18. OZORIO DE ALMEIDA, M., MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS, M., 1938, Influence des excitations réflexes sur l'attaque épileptiforme de la Grenouille sud-américaine due au refroidissement brusque de la moelle épinière. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 127: 710-712.

19. OZORIO DE ALMEIDA, M., MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS, M., 1938, Sur la période latente de l'attaque épileptiforme produite par le refrodissement brusque de la Grenouille sud-américaine (Leptodactylus ocellatus). *C. R. Soc. Biol., Paris*, 127: 723-725.

20. OZORIO DE ALMEIDA, M., MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS, M., 1938, Sur le refroidissement brusque de la moelle épinière par l'action du chlorure d'éthyle et son utilisation comme technique de l'étude de l'attaque épileptiforme. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 128: 217-220.

21. OZORIO DE ALMEIDA, M., MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS, M., 1938, Sur la production de l'attaque épileptiforme par refroidissement brusque de la moelle chez des espèces autres que la Grenouille sud-américaine. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 128: 213-216.

22. OZORIO DE ALMEIDA, M., MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS, M., 1938, Quelques conditions d'action des solutions concentrées de chlorure de sodium sur les nerfs. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 129: 422-424.

23. OZORIO DE ALMEIDA, M., MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS DIAS, M., 1938, Sur l'emploi des solutions concentrées de NaCl dans les recherches sur l'attaque épileptiforme, par refroidissement brusque de la moelle. *C. R. Soc. Biol., Paris* 129: 424-426.

24. OZORIO DE ALMEIDA, M., MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS, M., 1941, Recherches sur l'attaque épileptiforme produite par le refroidissement brusque de la moelle épinière. Premier mémoire: Introduction et technique. *Rev. Brasil. Biol.*, 1: 165-178.

25. OZORIO DE ALMEIDA, M. & PIÉRON, H., 1924, Action de la peau sur l'état général du système nerveux chez la Grenouille. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 90: 422-425.

26. OZORIO DE ALMEIDA, M. & VIANNA DIAS M., 1934, Observations et expériences sur l'attaque épileptiforme produite par le refroidissement de la moelle chez la Grenouille. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 116: 1150-1152.

27. RICHET, CH. & RICHET FILS, CH., 1921, *Traité de Physiologie médico-chirurgicale*. Paris, Oct. Doin, 1º vol., cf. pag. 56.

28. TAIT, J., 1908, The freezing of frog nerve with special reference to its fatigability. *Quart. J. exp. Physiol.*, 1: 79-96.

29. TRENDELENBURG, W., 1910, Der Einfluss der höheren Hirnteile auf die Reflextatigkeit des Rückenmarks. *Pflüg. Arch.. ges. Physiol.*, 136: 429-442.

Rev. Brasil. Biol., 1 (2): 195-199
Junho, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

OS MALÓFAGOS DO BOI E DO CAVALO [1]

FABIO LEONI WERNECK
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

(Com 4 figuras no texto)

Entre os malófagos adultos colhidos nos mamíferos predominam as fêmeas, embora a percentagem de machos seja, quasi sempre, elevada. Todavia, em alguns casos, são êstes extremamente raros, como sucede em certas espécies do gênero *Bovicola*. Os mais belos exemplos de tais exceções se encontram, sem dúvida, nos malófagos do boi e do cavalo, cujos machos permaneceram por longos anos desconhecidos, não obstante os frequentes exames parasitológicos a que são submetidos êsses animais, dada sua condição doméstica.

Coube a BEDFORD descobrir o macho de *Bovicola bovis*, que, aparentemente, não mais foi encontrado. Este autor, porém, não se preocupou em descreve-lo: apenas publicou, em 1920, um desenho de seu aparelho copulador, para evidenciar as diferenças susceptiveis de distingui-lo de uma das espécies habituais da cabra, no momento, principal objeto de suas cogitações.

Em relação ao macho de *Bovicola equi*, só existe uma referência em toda a literatura; feita por PIAGET em sua obra clássica. Entretanto, a leitura atenta das particularidades que aí lhe foram atribuidas nos fez supor que PIAGET tivesse tido em mãos uma forma imatura e não um macho, como acreditara. Tal suspeita nos foi confirmada por Miss THERESA CLAY, a quem solicitamos o obséquio de examinar, no Museu Britânico, os exemplares estudados pelo referido autor.

Deante desta verificação, intensificamos nossas pesquisas, movidos não só pelo simples desejo de conhecer o macho em questão, como para elucidar um problema surgido inesperadamente quando procurávamos determinar material enviado por Miss CLAY, proveniente de um exemplar de *Ammotragus lervia* do jardim zoológico de Londres. Além de fêmeas exatamente idênticas às de *Bovicola equi*, aí encontramos alta percentagem de machos. Dada a existência de malófagos com caracteres específicos apenas nos indivíduos dêste sexo, não nos era lí-

[1] Recebido para publicação a 10 de Maio de 1941.

cito identificar os parasitos em estudo aos do cavalo, cujo macho desconhecíamos. Entretanto, se fossem da mesma espécie, estaríamos deante de um fato do maior interesse, pois que num caso os machos seriam abundantes e noutro extremamente raros, indicando alteração na biologia do parasito por influência do hospedador. A observação teria tanto maior valor quanto é sabido que as espécies do gênero *Bovicola* são peculiares aos bovídeos e que sua ocurrência no cavalo constitui notavel exceção.

Mas, a-pesar-de examinar com o máximo cuidado o material que conseguimos obter de muitos cavalos, onde frequentemente o número de fêmeas se elevava a algumas centenas, a pesquisa do macho foi sempre negativa. Por fim, em 14 de abril do corrente ano, o encontramos pela primeira vez, representado por exemplar único entre cerca de trinta fêmeas. Aos amigos Hugo de Souza Lopes, professor de Parasitologia na Escola Nacional de Veterinária, e Jayme Lins de Almeida, assistente do Instituto de Biologia Animal, devemos a oportunidade de determinar estes exemplares. Aqui lhes consignamos nossos agradecimentos por tão viva satisfação.

O conhecimento do macho de *Bovicola equi* nos permite afirmar que os parasitos provenientes de *Ammotragus lervia* pertencem a espécie distinta, ainda que extremamente próxima à do cavalo. Trata-se, com toda a probabilidade, de uma nova espécie, o que contudo não nos é possivel assegurar enquanto outros parasitos do mesmo gênero não forem melhor conhecidos. Necessitaríamos, pelo menos, estudar os malófagos encontrados por Piaget na zebra, para formular uma opinião melhor fundamentada.

No presente trabalho fornecemos indicações sobre os machos de *Bovicola bovis* e *Bovicola equi*, que completam a descrição destas espécies por nós publicada em 1936. Para isto nos servimos do único espécime macho do malófago do boi existente na coleção Bedford, gentilmente posto a nossa disposição por nosso amigo G. H. E. Hopkins, conhecido entomologista dos Serviços de Laboratório da Uganda, a quem testemunhamos nosso reconhecimento.

Bovicola bovis (Linnaeus)

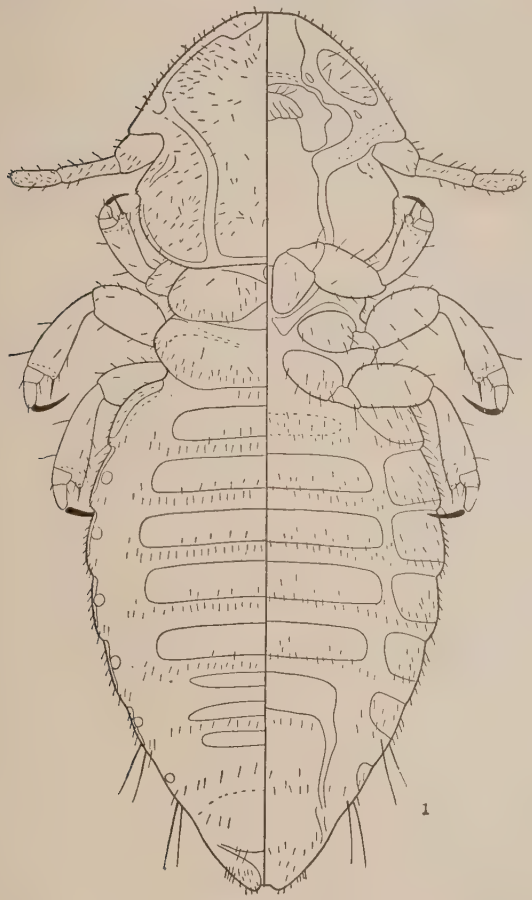
Descrição:

Macho (fig. 1). Comprimento: 1,22 mm.

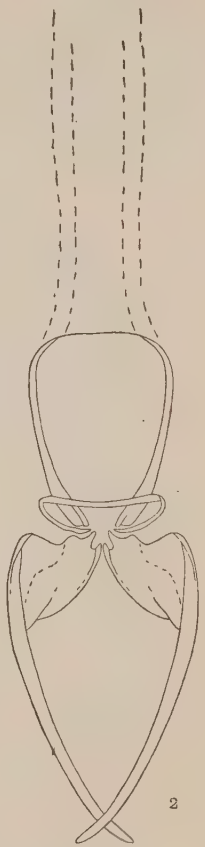
Difere da fêmea em algumas particularidades do aspecto externo.

Abdômen mais acentuadamente oval, com a extremidade posterior fina e margens laterais fortemente convergentes em sua segunda metade. Placas tergais e esternais mais largas, isto é, tendo as extremidades laterais mais próximas das margens do abdômen, sobretudo na face ventral. Placa tergal dupla, no segmento correspondente ao quinto par de estigmas respiratórios; formada por pequenas manchas pigmentadas, dispostas no sentido transversal. No segmento seguinte ha apenas uma mancha, pouco menor que as acima refe-

ridas. Placa genital grande, constituida pela sexta placa esternal, cujas extremidades se prolongam em faixas longitudinais e paralelas.



1



2

Bovicola bovis — Fig. 1: Macho; fig. 2: aparelho copulador do macho.

Cabeça sensivelmente igual à da fêmea. Antenas sem dimorfismo sexual. Aparelho copulador (fig. 2) com placa basal longa e estreita, tendo a porção anterior mais larga e mais quitinizada. Parâmeros finos, compridos, com a extremidade proximal fortemente dilatada.

Bovicola equi (Linnaeus)

DESCRIÇÃO:

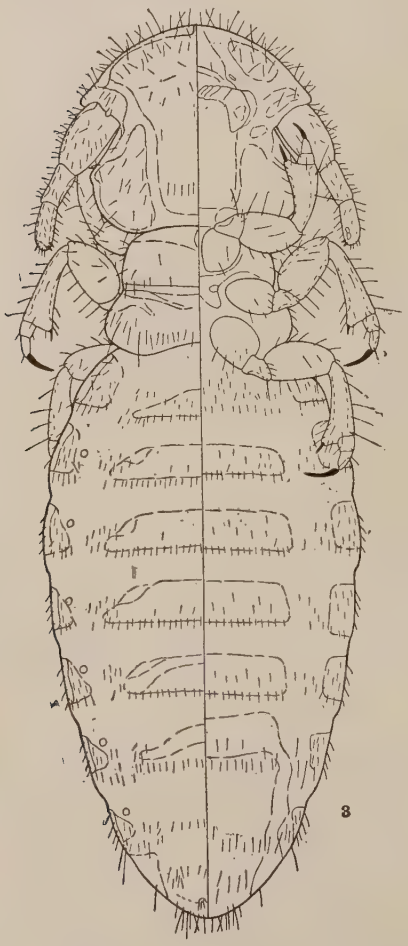
Macho (fig. 3). Comprimento: 1,92 mm.

Muito semelhante à fêmea, da qual se distingue pelos caracteres adeante assinalados.

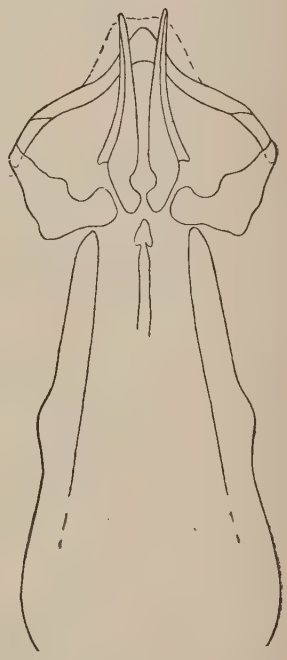
Cabeça com fossas de implantação das antenas mais amplas e com a porção pré-antenal mais curta. Antenas maiores, sobretudo mais grossas, rijas e en-

curvadas, tendo o primeiro artículo muito desenvolvido. O comprimento dêste é aproximadamente igual a metade do comprimento total das antenas e seu diâmetro duas vezes maior que o dos demais segmentos.

Abdômen pouco mais estreito, com a extremidade posterior mais fina. Não nos foi possivel encontrar pigmentação na face tergal dos últimos aneis abdominais. Placas tergais correspondentes ao penúltimo e antepenúltimo pares de estigmas respiratórios, com uma zona mais escura, em forma de arco. A placa genital é formada por larga mancha transversal, ao nivel do quinto par de estigmas, e por faixas longitudinais, estreitas e sinuosas, junto às margens do abdômen. Na borda posterior do orifício genital, ha duas pequenas saliências guarnecidas de pêlos.



3



4

Bovicola equi — Fig. 3: Macho; fig. 4: aparelho copulador do macho.

Aparelho copulador (fig. 4), constituido por placa basal de margens espessas e convergentes; parâmeros curtos e largos, de forma subtriangular; pseudopenis sem ramo terminal e com os laterais em ângulo reto; endômeros longos,

delgados, mais largos na porção anterior, cuja borda interna apresenta uma reentrância semicircular; vesícula penis revestida exclusivamente de espinhos pequenos.

RESUMÉ

Le boeuf et le cheval portent souvent des parasites — respectivement: *Bovicola bovis* et *Bovicola equi* — dont les mâles sont extrêmement rares. Malgré cela, nous avons pu les examiner et compléter, de cette manière, l'étude que nous avons publié sur ces espèces en 1936. Car nous avons trouvé le mâle de *equi*, jusqu'alors inconnu, et nous avons eu l'opportunité de voir l'unique exemplaire mâle de *bovis* existant dans la collection Bedford, le seul auteur qui l'ait rencontré.

BIBLIOGRAFIA

BEDFORD, G. A. H., 1920, Anoplura from South African Hosts (Part II). *7th and 8th Rep. Dir. Vet. Res., S. Africa*, pp. 711-734, pl. 6, fig. 3.

PIAGET. E., 1880, *Les Pédiculines*, cf. pp. 397-398.

WERNECK, F. L., 1936, Contribuição ao conhecimento dos malófagos encontrados nos mamíferos sul-americanos. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 31: 391-589, figs. 183-188.

Rev. Brasil. Biol., 1 (2): 201-202
Junho, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

"EURYTREMA ELLIPTICUM" N. SP. (Trematoda, Dicrocoeliidæ) [1]

LAURO TRAVASSOS

Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

(Com uma figura no texto)

Comprimento 2,4 a 3,8 mm. Largura máxima na zona acetabular, de 0,7 a 0,15 mm. Corpo achatado de contorno elipsoide ou ovoide. Cutícula sem espinhos e com pequenas papilas irregularmente dispersas. Acetábulo relativamente grande e forte, maior que a ventosa oral, pré-equatorial; mede cerca de 0,33 por 0,45 mm. de diâmetro nos exemplares menores e 0,55 por 0,68 mm. nos maiores. Ventosa oral subterminal, forte, com cerca de 0,21 por 0,24 mm. a 0,35 por 0,48 mm. de diâmetros. Relação entre as ventosas — 1 : 1,47 a 1,90. Pre-faringe ausente. Faringe redondo com cerca de 0,07 a 0,15 mm. de diâmetro. Esôfago curto com cerca de 0,10 a 0,19 mm. de comprimento. Cecos regularmente largos, sinuosos desde a zona acetabular; se extendem até o início do quarto posterior do corpo. São dificeis de observar abaixo da zona testicular. Poro genital bifurcal ou ligeiramente post-bifurcal, mediano. Bolsa do cirro contendo cirro, próstata e vesícula seminal enovelada. E' situada obliquamente ao eixo longitudinal e inteiramente pre-acetabular; mede cerca de 0,32 a 0,45 mm. de comprimento por 0,10 a 0,19 mm. de maior largura. Os canais deferentes se reunem antes da bolsa do cirro formando um canal único com cerca de 0,21 a 0,24 mm. de comprimento. Testículos lobados, com campos afastados e zonas coincidindo, post-acetabulares ou parcialmente na zona acetabular, total ou parcialmente extra-cecais. Medem cerca de 0,45 por 0,53 mm. de diâmetros em média. Alguns exemplares podem apresentar testículos muito reduzidos. Ovário entre os campos testiculares, geralmente em contato com o campo de um dos testículos, total ou parcialmente na zona testicular. Tem contorno irregular alongado transversalmente, raramente redondo. Mede cerca de 0,38 por 0,15 a 0,36 por 0,19 mm. Vitelinos constituidos por poucos folículos volumosos, geralmente mais numerosos em um dos lados, extra-cecais, nos campos testiculares e logo abaixo da zona testicular. Medem de comprimento cerca de 0,27 e 0,58 mm. a 0,50 e 0,79 mm. Canal de Laurer presente, somente visivel em poucos exemplares. Glândula de Mehlis post-ovariana. Espermateca parcialmente na área do ovário, mede cerca de 0,18 a 0,22 mm. de diâmetro. Útero com ramos descendente e ascendente formando numerosas alças abaixo da zona testicular que ocupam toda a área do corpo e ocultam inteiramente as terminações cecais. O ramo ascendente forma um pequeno grupo de alças entre os testículos e na área acetabular; termina por vagina pouco musculosa e sem formar alças pre-acetabulares. Ovos operculados, de côr castanho escuro quando

[1] Recebido para publicação a 12 de Maio de 1941.
Trabalho do Laboratório de Helmintologia do Instituto Oswaldo Cruz.

maduros; medem cerca de 0,038 a 0,049 mm. de comprimento por 0,022 a 0,034 mm. de maior largura. A maior quantidade dos ovos medem 0,041 por

Fig. 1 — *Eurytrema ellipticum* n. sp.

0,022 mm. Vesícula excretora, muito difícil de observar em exemplares diafanizados, em forma de bastonete.

Habitat — Vesícula biliar de *Thraupis sayaca* (L.).

Proveniência — Salobra, Estado de Mato Grosso. Brasil.

Tipo e paratipos na coleção helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz.

Encontramos varios exemplares de *T. sayaca* parasitados com um número variavel de parasitos. Uma das aves continha, na vesícula biliar muito dilatada, 101 exemplares do parasito.

Esta espécie apresenta duas peculiaridades que a destacam de todas as outras espécies: os testículos extra-cecais e os canais deferentes se reunindo muito antes da bolsa do cirro como se observa em *E. conspicuum* (Faria, 1912). Os cecos tambem apresentam paredes muito delgadas e não coraveis pelo carmim de maneira a ser difícil observa-los, em exemplares diafanizados, abaixo da zona ovariana.

Rev. Brasil. Biol., 1 (2): 203-205
Junho, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

PRIMEIRAS OBSERVAÇÕES SOBRE OS ATAQUES EPILEPTIFORMES ANÔMALOS DO "LEPTODACTYLUS OCELLATUS" DO RIO DE JANEIRO [1]

MIGUEL OZORIO DE ALMEIDA, H. MOUSSATCHÉ e M. VIANNA DIAS

Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

No decurso de nossas pesquisas sistemáticas sobre as reações da preparação medula isolada-trem posterior da Rã sul-americana (*Leptodactylus ocellatus*), e sobretudo do ataque epileptiforme produzido pelo resfriamento brusco da medula, pudemos observar, a partir do mês de Setembro de 1940, anomalias, por vezes muito acentuadas, e que podem alterar profundamente a significação dos resultados das experiências. Daí a necessidade de assinalá-las desde já, quando iniciamos nêste número da *Revista Brasileira de Biologia* a publicação de conjunto dos resultados obtidos acêrca da epilepsia espinhal. Muito longe estamos ainda da elucidação das razões e causas dessas anomalias. Descreveremos sumariamente os fatos observados e a orientação das pesquisas.

As Rãs de um lote trazido em Setembro pelo fornecedor habitual do laboratório, apresentavam à operação, uma côr anormal do sangue. Ao secionar o bulbo, ou no momento das incisões necessárias para fazer a preparação de sistema nervoso isolado, o sangue não era vermelho, claro ou escuro, conforme mais ou menos arterializado. Tinha uma côr arroxeada, com tonalidade muito diferente da normal: mais opaca, tirando para o pardacento, como certos vinhos espessos.

Os animais, antes da operação, nada revelavam de anormal: a atitude, a vivacidade, as reações eram perfeitamente naturais. Uma vez operado o isolamento da medula, sempre que o sangue estava alterado, as reações nervosas eram desconcertantes e imprevistas. Em algumas experiências, o ataque epileptiforme produziu-se a temperaturas de 17 ou 18°, quando o limite superior dêsse ataque é de 8°,5 (1). Em mais de um caso, deu-se o ataque à temperatura do laboratório (superior a 20°), sem que fosse necessário qualquer resfriamento da medula. Bastava que fossem feitas excitações periféricas intensas, e em

[1] Recebido para publicação a 12 de Maio de 1941.
Trabalho do Laboratório de Fisiologia do Instituto Oswaldo Cruz.

certos casos as seções e pinçamentos da operação eram suficientes para desencadear o ataque.

Nossas pesquisas anteriores haviam demonstrado que numerosas substâncias empregadas em Farmacologia alteram a intensidade e a forma do ataque, e sobre isso publicamos várias notas nos *C. R. de la Société de Biologie.*

Algumas suprimem o ataque, outras o tornam mais intenso, outras ainda alteram a importância relativa e a sucessão das fases. Esse estudo farmacológico é longo e exigirá ainda muito tempo de trabalho. Entretanto, nenhuma das substâncias que tínhamos estudado poderia ser lembrada como causadora de uma intoxicação semelhante à que provavelmente teriam as Rãs examinadas. As Rãs só poderiam ser intoxicadas por alguma substância que se encontrasse ocasionalmente dissolvida nas aguas em que vivem. Certos sais, principalmente os sais de cálcio, modificam a forma e a intensidade do ataque (2), mas não produzem alterações tão pronunciadas como as que foram observadas nos lotes de Rãs à nossa disposição. A novocaina produz, quando injetada em alta dose, uma alteração da côr do sangue; mas não era possivel pensar que as Rãs viessem para o laboratório intoxicadas pela novocaina, tanto mais quanto essa substância, em logar de facilitar a produção do ataque, inhibe-o (3).

Examinámos repetidamente ao espectroscópio o sangue das Rãs que davam ataques expontâneos. Confiámos alguns desses exames ao nosso colega e amigo Dr. Gilberto Vilela. O espectro era normal e só encontrámos, conforme as condições do exame, as raias da oxihemoglobina ou da hemoglobina reduzida.

Não nos foi possivel saber com exatidão onde são apanhadas essas Rãs que, de quando em vez, chegam ao laboratório. O fornecedor esquiva-se a dar indicações precisas. Apenas soubemos que provêm de riachos que recebem aguas e detritos de algumas fábricas.

Temos razões para acreditar, pois, que algumas substâncias que se encontram nessas aguas intoxicam as Rãs e estas apresentam anomalias em suas reações nervosas medulares. Provavelmente, entre essas substâncias encontram-se matérias corantes de ação enérgica, em dose não suficiente para revelar, no sangue diluido, sua presença ao exame espectroscópico comum.

Em um trabalho dessa natureza, a pesquisa depende do acaso do material trazido ao laboratório. Não dispuzemos ainda de número suficiente de Rãs intoxicadas para examinar alterações possiveis de outras funções dos nervos e do sistema nervoso (cronaxia, reflexos, reflexos labirínticos, etc.).

Sob o ponto de vista prático assinalamos alguns dos aspectos da questão que nos parecem mais importantes:

1. A multiplicação das fábricas e o consequente despejo de substâncias químicas variadas nos cursos dagua, podem produzir alterações bastante profundas das reações fisiológicas, principalmente das reações

do sistema nervoso das Rãs, e provavelmente de outros animais, que são apanhados nessas aguas.

2. Para os estudos de epilepsia espinhal, é necessário estar prevenido e sempre ter em vista a possibilidade dessas anomalias. Deve-se aqui no Rio de Janeiro, afastar das séries normais de experiências, todas as Rãs que apresentarem uma alteração da côr do sangue.

3. E' urgente fazer um estudo sistemático da ação de todas as substâncias que se encontram nos detritos de indústrias e são lançadas nas aguas afim de poder classificar como normais ou anormais os fenômenos novos observados nas experiências, dada a possibilidade de uma intoxicação.

4. Sempre que possivel, o que em muitos casos encontra dificuldades práticas, é conveniente ter informações precisas sobre a proveniência das Rãs.

REFERÊNCIAS

1) — OZORIO DE ALMEIDA, M., MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS, M., 1941, Recherches sur l'attaque épileptiforme produite par le refroidissement brusque de la moelle épinière. II. Étude physiologique du phénomène chez le *Leptodactylus ocellatus* des environs de Rio de Janeiro. *Rev. Brasil. Biol.*, 1 (2): 179-194.

2) — OZORIO DE ALMEIDA, M. & VIANNA DIAS, M., 1936, Recherches pharmacologiques sur l'attaque épileptiforme produite chez la Grenouille par le refroidissement brusque de la moelle isolée. *C. R. Soc. Biol. Paris,* 121: 771-773.

3) — OZORIO DE ALMEIDA, M. & VIANNA DIAS, M. 1934, Action de quelques narcotiques et anesthésiques sur l'accès épileptiforme produit par le refroidissement de la moelle. *C. R. Soc. Biol. Paris,* 117: 387-389.

Rev. Brasil. Biol., 1 (2): 207-213
Junho, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

UMA NOVA ESPÉCIE DE "LIBELLULIDAE" DO GÊNERO "ZENITHOPTERA" SELYS, 1882 (Insecta, Odonata) [1]

N. DIAS DOS SANTOS

Museu Nacional, Rio de Janeiro, D. F.

(Com 12 figuras no texto)

Zenithoptera lanei n. sp.

DESCRIÇÃO DO MACHO (Figs. 1, 3-11)

Cabeça: medindo 2,4 mm. de compr., 4 mm. de largura e 3,1 mm. de altura; lábio e labro de côr amarelo palha escura, com cerdas esparsas; labro com o bordo livre em arco de círculo tendo uma mancha difusa e escura no meio e na base; anteclipeo e clipeo de côr cinza; fronte formada de cada lado por grossas tuberosidades com sulco mediano nítido de côr amarela e marchetado de preto na metade anterior, de côr preta na metade posterior. Tubérculo vertical muito saliente, convexo, de côr preta e com duas eminências de cada lado da linha mediana; *occiput* preto; todas essas regiões são providas de cerdas abundantes, menores porém, do que as do lábio e labro; olhos contiguos, escuros quasi pretos; parte trazeira da cabeça de côr preta; bordo posterior da cabeça com longas cerdas finas; antenas com cinco artículos.

Torax: Protorax de côr preta; lobo anterior em forma de lâmina semi-circular quasi vertical e com a extremidade superior amarelada; lobo mediano em forma de anel, mais largo que todos os outros e com um entalhe em V no bordo anterior; lobo posterior em forma de lâmina retangular com uma depressão em forma de sulco, mediana; cerdas esparsas em todo o protorax porém maiores nos ângulos posteriores do lobo posterior.

Sintorax medindo 6 mm. de compr., 3,5 mm. de largura e 3,75 de altura, de côr escura no dorso e em baixo; na parte superior apresenta dusa faixas longitudinais paralelas de cada lado, de côr amarela escura percorrendo o meio do mesipisterno; lateralmente o torax tambem é escuro mas apresenta duas faixas de côr amarela escura, mais largas e mais nítidas que as anteriores; ocupam, a superior, o meso-epimero e a posterior o meta-epimero; essa última em sua extremidade anterior prolonga-se em uma fina faixa de côr mais nitidamente amarela.

Asas: Asa anterior medindo 20 mm. de compr. por 6 mm. de larg. de colôrido geral cinzento escuro nos exemplares pouco antigos, misturado com azul nos

[1] Recebido para publicação a 13 de Maio de 1941.

exemplares velhos; a face inferior sempre uniformemente cinza escuro em todos os exemplares; face superior com reflexo violáceo; faixa transversal hialina mais larga na parte anterior (2,5 a 3 mm.) estreitando-se para traz, situada entre o nodus e a 4.ª a 6.ª, postnodal, alcançando ou não o bordo posterior; mancha hialina apical medindo 3-4 mm. (no sentido ântero-posterior) por 1,5-2,5 mm. (no sentido da base para o ápice), imediatamente adiante do pterostigma, atingindo o bordo superior da asa e 2 a 3 células acima de IR3; o espaço da base até o arculus e às vêzes 4 células além dêle e o espaço abaixo da Costal da base ao meio da 3.ª célula, de côr amarelo cinza.

Nervulação: Costal (C) com distinta concavidade entre a base e o nodus; 13 antenodais na primeira série, a 5, 6, 7, 8, 9 e 10 não contínuas; 12 na segunda série; 8 postenodais até o pterostigma. Célula discoidal (triângulo) medindo 2 mm. por 0,90 mm., atravessado por 3 nervuras; supra-triângulo atravessado por uma nervura; espaço sub-triangular com 6 células; célula basal in-

Zenithoptera lanei n. sp. — Fig. 1: macho; fig. 2: fêmea. Aumentado cerca de duas vezes.

ferior com uma nervura transversal; espaço post-triangular seguido por 5 séries de células que diminuem para 4 e de novo aumentam até 6 na margem da asa; arculus saindo 1/8 da célula adiante da primeira antenodal; setores do arculus apenas se tocando na origem; pedúnculo de R2, R3 e IR3 saíndo ao nivel da sexta antenodal e IR3 isolando-se ao nivel da 7.ª antenodal; entre R1 e R2 ha uma série de células exceto no bordo da asa onde existem 2 superpostas; entre

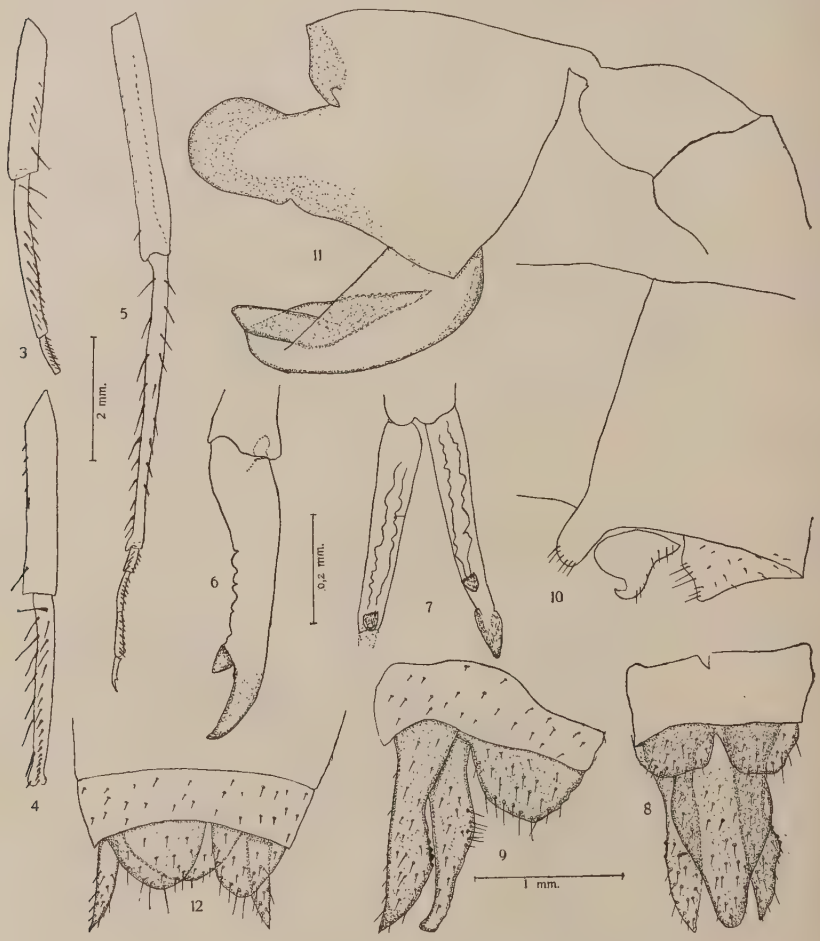
R2 e R3 ha 3 nervuras suplementares e no bordo da asa ha 13 células; entre R3 e IR3 ha uma série de 10 células, a seguir 2 superpostas de 10 células, a superior e de 12 a inferior; suplemento radial (R spl) nascendo ao nivel da 2.ª post-nodal e circunscrevendo células na seguinte disposição: Uma série de 2 células, 2 séries superpostas, a superior com 7 e a inferior com 9, novamente uma série de 7 e afinal duas séries superpostas de 2 células cada uma; entre IR3 e R4 + 5 ainda se encontram 4 nítidas nervuras suplementares oriundas de R spl, havendo na margem da asa 20 células; entre R4 + 5 e MA ha uma série de 21 células e em seguida 2 séries superpostas, a superior com 3 e a inferior com 4 e novamente uma série de 4 células até o bordo da asa; CuP a princípio dirige-se um pouco para cima; na distância entre a base da asa e a projeção do triângulo no bordo posterior da asa ha 14 células, as 6 primeiras longas; entre o triângulo e a terminação de MA, ha no bordo da asa 25 células. Membrânula amarelo cinza. Pterostigma com 3,6 mm. de compr.

Asa posterior medindo 21 mm. de compr. por 6,5 mm. de larg. com a mesma coloração geral da asa anterior; faixa hialina transversal um pouco inclinada para a base, com 2-2,5 mm. de largura na parte anterior, estreitando-se para traz rapidamente ou lentamente, não alcançando o bordo posterior da asa; mancha apical hialina presente, sempre menor que a anterior, em média com 1,5 por 1,25 mm. sempre abaixo de R1, 1/2 ou 1 célula adiante do pterostigma e 4 a 7 células acima de IR3; espaço antes do arculus e após ele, e o espaço abaixo da Costal da mesma côr que na asa anterior; mancha basal hialina, elítica, podendo faltar; na face superior é pouco visivel, de bordos mal limitados, com reflexos violáceos e na face inferior nítida; situada imediatamente abaixo do vértice inferior do triângulo que aponta para o meio dela.

Nervulação: Costal (C) sem concavidade; 9 nervuras antenodais contínuas; 9 postnodais até o pterostigma; célula discoidal medindo 2,1 por 0,90 mm. atravessada por uma nervura; célula basal inferior com 2 nervuras; supratriângulo atravessado por uma nervura; espaço post-triangular começando com 4 séries de células, diminuindo para 3 e aumentando de novo até atingir 17 células no bordo; M spl presente e correndo paralelo a CuP, havendo ainda nesse espaço 8 nervuras suplementares; arculus saíndo 1/3 da célula adiante da primeira antenodal; setores do arculus tocando-se na origem; pedúnculo de R2, R3 e IR3 saíndo a um nivel um pouco antes da 5.ª antenodal; IR3 isolando-se ao nivel da 6.ª antenodal entre RI e R2 ha uma série de células; entre R2 e R3 ha 4 longas nervuras suplementares, havendo no bordo 16 células; entre R3 e IR3 ha uma série de 15 células, a seguir 2 superpostas de 10 células cada uma; entre IR3 e R4 + 5 encontramos: Suplemento Radial (R spl) nascendo ao nivel da 2.ª post-nodal e circunscrevendo células na seguinte disposição: Uma série de 5, duas séries superpostas, a superior com 4 e a inferior com 6 e 6 nervuras suplementares oriundas de R spl, havendo no bordo 23 células; entre R4 + 5 e MA ha só uma série de células; AA bifurcando-se após a 5.ª célula acima dela, um dos ramos correndo paralelo a CuP e o outro descendo quasi verticalmente para o bordo posterior da asa e fundindo-se com Al uma célula antes do bordo; entre AA e CuP ha uma série de 10 células e a seguir 2 superpostas de 4 cada uma; entre os ramos de AA ha no bordo compreendidos 10 células, havendo uma nervura suplementar; suplemento cubital (Cu spl) presente; A2 e A3 bifurcando-se após a 1.ª célula; entre a terminação de Cu spl e o 1.º ramo de A2 ha 5 células; entre o 1.º ramo de A2 e o 1.º de A3 ha 12 células. Pterostigma medindo 4,1 mm. de longo. Membrânula de côr cinza.

Patas: medidas — anterior (fig. 3) femur 2,5 mm.; tíbia 2,6 mm.; maior espinho da tíbia 0,50 mm.; média (fig. 4) femur 3 mm.; tíbia 3,25 mm.; maior espinho da tíbia 0,55 mm.; posterior (fig. 5) femur 3,87 mm.; tíbia 4,4 mm.; tarso sem a garra 1,90 mm.; garra 0,50 mm.; dente inferior saíndo a 1,05 mm. da base. Escuras, tendo porem uma faixa clara pouco visivel na face inferior dos

trocânteres e dos fêmures; femur anterior com uma série de curtos espinhos, o menor medindo 0,05 e o maior 0,2 mm. por 0,05 de largura; cerdas esparsas de 0,24 mm.; espinho apical (à distância de 0,5 mm. do ápice) medindo 0,50 mm.; femur médio com uma série de curtos espinhos e com cerdas esparsas em média de 0,28 mm.; espinho apical (à distância de 0,5 mm. do ápice) medindo 0,44 mm.; femur posterior com 2 séries de curtos e grossos espinhos em média de 0,04 mm., por 0,02 mm., com cerdas esparsas de 0,16 mm.; espinho apical presente (à distância de 0,5 mm. do ápice) medindo 0,32 mm. Todas as tíbias com 2 séries paralelas de espinhos na face inferior que diminuem de tamanho para o ápice



Zenithoptera lanei n. sp. — Fig. 3: pata anterior do macho; fig. 4: pata mediana do macho; fig. 5: pata posterior do macho; fig. 6: garra da pata posterior do macho, vista de perfil; fig. 7: garras da pata posterior do macho, vista ventral; fig. 8: apêndices anais superiores e inferior do macho vistos pela face ventral; fig. 9: apêndices anais superior e inferior do macho vistos de perfil; fig. 10: genitalia do macho, vista de perfil, *a* — 2º segmento. *b* — 3º segmento; fig. 11: hâmula, vista de perfil; fig. 12: apêndices anais da fêmea, vista ventral, *a* — 9º segmento, *b* — 10º segmento. (Figs. 3, 4 e 5 na mesma escala; figs. 6, 7 e 11 na mesma escala; figs. 8, 9, 10 e 12 na mesma escala).

tendo cerdas espalhadas. Tarsos triarticulados, o 1.º artículo menor que os outros todos com duas séries de espinhos em duas unhas, cada uma com 2 dentes desiguais o inferior menor; bordo inferior entre o dente inferior e a base da unha ondulado.

Abdomen: medindo 16,5 mm. de comprimento por 1,5 mm. de largura e 1,35 de altura (ao nivel do 3.º segmento), triangular, de côr preta, tendo de cada lado uma faixa amarela que vae afinando para traz, situada do primeiro ao 5.º segmento; neste último apresenta-se como um traço; articulações quando estufadas deixam ver uma côr amarela avermelhada; 2.º, 3.º e 4.º segmentos com carina transversal. Apêndices anais superiores (figs. 8 e 9) escuros, medindo 1,35 mm. de comprimento por 0,22 de larg.; cilíndricos, terminados em ponta aguda; são mais estreitos um pouco antes do meio; face inferior 4 a 5 dentes muito curtos, cônicos e fortes; cerdas esparsas medindo em média 0,12 mm.; apêndice anal inferior medindo 1,35 de comprimento por 0,68 de largura estreitando-se para o ápice que é arredondado; cerdas esparsas medindo em média 0,14 mm.

Genitália do 2.º segmento: (fig. 10) lâmina superior mais ou menos retangular medindo 0,56 mm. de comprimento por 0,88 de larg. com cerdas medindo em média 0,24; hâmulas de 0,56 de comprimento por 0,40 de largura arredondadas e com um prolongamento em gancho; cerdas de 0,16 mm.; lobo genital medindo 0,50 por 0,22 mm., arredondado no bordo livre, com um tufo de cerdas apical medindo em média 0,13 mm.

DESCRIÇÃO DA FÊMEA (Figs. 2 e 12) (*só constarão os caracteres diferentes dos do macho*)

Cabeça: medindo 2,7 mm. de compr., 4,3 mm. de largura e 3 mm. de altura; o resto como no ♂.

Torax: sintorax medindo 6 mm. de comprimento, 3,5 mm. de largura e 4,3 mm. de altura; coloração geral e faixas como no ♂ ou um pouco menos visiveis. Patas com o mesmo colorido e faixa; medidas: anterior: femur 2,3 mm., tíbia 2,3, tarso 0,90, garra 0,37 e maior espinho da tíbia 0,50; média: femur 2,6, tíbia 3, tarso 1, garra 0,44 e maior espinho da tíbia 0,50; posterior: femur 3,7, tíbia 4, tarso 0,60, garra 0,50 e maior espinho da tíbia 0,50.

Asas: anterior 20 mm. por 6 mm.; colorido e manchas como no ♂; mancha apical medindo 2,8 a 3 mm. por 2,7 a 3 mm. Nervulação: 12 antenodais na 1.ª série, a 5.ª, 6.ª, 7.ª, 8.ª, 9.ª e 12.ª não contínuas; 10 na 2.ª série; 7 postnodais; célula discoidal (triângulo) medindo 1,88 por 0,88 mm. atravessado por 2-3 nervuras; supratriângulo com 1 ou sem nervura transversal; célula basal inferior com 1 ou 2 nervuras; espaço sub-triangular com 5 células; espaço post-triangular seguido de 4 séries de células que diminuem para 3 e aumentam de novo para 4; pedúnculo comum de R1, R2, R3 e IR3 nascendo a um nivel entre a 5.ª e a 6.ª antenodal; IR3 isolando-se entre a 6.ª e a 7.ª antenodal; entre R2 e R3 ha no bordo 10 células e 2 nervuras suplementares; entre R3 e IR3 ha uma série de 15 células, a seguir 2 séries superpostas, a superior com 9 e a inferior com 11; Suplemento radial (Rspl) nascendo ao nivel da 3.ª postnodal e circunscrevendo células na seguinte disposição: 2 séries superpostas, a superior com 5 e a inferior com 6 e a seguir uma série até o bordo; entre IR3 e R4 + 5 ha no bordo 17 células e 5-6 nervuras suplementares; entre R4 + 5 e MA ha uma série de 21 células e a seguir 2 séries superpostas de 2 cada e de novo uma série de 4 células; entre o bordo da asa e a projeção do triângulo no bordo posterior da asa ha 11 células, as 4 primeiras numa só série e muito grandes; entre essa projeção do triângulo e a terminação de CuP ha 21 células. Pterostigma com 4 mm. por 0,75. Membrânula amarelo-cinza. Asa posterior medindo 20,5 por 7 mm. com o mesmo colorido geral e manchas que no ♂; mancha apical começando 1 1/2

células antes do fim do pterostigma, abaixo de R1 como no ♂, 3-4 células acima de IR3, medindo 2,25 por 2,25; mancha basal hialina como no ♂ porém mais nítida medindo pela face ventral 4,25 por 2 mm.; essa mancha pode faltar. Nervulação: 8 antenodais continuas, 6 postnodais; célula discoidal (triângulo) atravessada por uma nervura; espaço post-triangular começando com 3 séries de células que aumentam de número pouco a pouco até alcançar 13 células no bordo; nesse espaço ainda encontramos presente o Suplemento (Mspl) mediano e 5 nervuras suplementares; IR3 isolando-se a um nivel entre a 5.ª e 6.ª antenodal; entre R2 e R3 ha no bordo 13 células bem como 6 nervuras suplementares nítidas; entre R3 e IR3 ha uma série de 13 células a seguir 2 séries superpostas de 10 cada; entre IR3 e R4 + 5 encontramos: Suplemento radial (Rspl) nascendo a um nivel entre 2-3 postnodal e circunscrevendo células na seguinte disposição: uma série de 3, 2 séries superpostas a superior com 5 e a inferior com 6 e a seguir uma série de 9; e mais 7 nervuras suplementares, as 6 primeiras saindo de Rspl; entre CuP e o ramo externo de AA ha uma série de 4 células, 2 séries superpostas de 2 cada, uma série de 2 e finalmente 2 séries superpostas, a superior com 5 e a inferior com 4; entre o ramo mais externo e o mais interno de AA ha no bordo 7 células e tambem 2 nervuras suplementares; Suplemento Cubital (Cuspl) presente; A2 bifurcando-se após a 1.ª célula, seu ramo direito resolvendo-se em 3 ramos e o esquerdo em 2; entre Cuspl e o ramo mais externo de A2 ha uma célula; entre o ramo mais externo e o mais interno de A2 ha 10 células, A3 bifurcando-se após a 3.ª célula acima; entre o ramo mais interno de A2 e o mais externo de A3 ha 2 células; entre os ramos de A3 ha uma célula; entre a base e o ramo externo de A4 ha uma célula. Pterostigma medindo 4,88 mm. por 0,67 mm. de largura; membrânula de côr amarelo cinza.

Abdômen medindo 13 mm. de comprimento, tendo uma faixa de côr amarela escura de cada lado, estendendo-se do 1.º ao 6.º segmento, às vezes até o 7.º, porém nestes 3 últimos pouco visivel; essa faixa só é contínua até o 4.º segmento, apresentando-se nos restantes sob a forma de traços ocupando o centro do segmento, lateralmente; mede em média 0,7 mm. de largura; essa faixa não é tão nítida como no ♂; apêndices anais medindo 1,3 mm. de extensão, pretos e com cerdas.

Material estudado — Holotipo ♂ e alotipo ♀, paratipos 3 ♂♂ e 1 ♀ de Murtinho, Estado de Mato Grosso, XI/1929 a I/1930, R. Spitz leg. Holotipo, alotipo e 1 paratipo ♂ respectivamente com os ns. 2.012, 2.013 e 2.011 na Coleção de Odonata do Museu Nacional, os demais paratipos têm o n.º 22.030 na Coleção do Museu Paulista; 1 paratipo ♀ de Campinas, Estado de Goiás, Fr. Borgmeier e H. Souza Lopes leg., numerado 2.014 na Col. Museu Nacional.

Desse material 4 ♂♂ e 2 ♀♀ foram cedidos gentilmente pelo Dr. Frederico Lane, entomólogo do Museu Paulista e 1 ♀ pelo entomólogo Dario Mendes; a êles envio os meus agradecimentos.

Essa espécie difere das duas outras conhecidas, *Z. fasciata* L. e *Z. americana* L. pela presença: da mancha apical hialina em ambas asas, de uma faixa amarela escura de cada lado do abdômen, duma faixa da mesma côr, de cada lado da linha mediana, no mesotorax e de duas outras da mesma coloração de cada lado do sintorax.

E' dedicada ao profícuo entomólogo do Museu Paulista, Dr. Frederico Lane.

BIBLIOGRAFIA

BURMEISTER, H., 1838, Handbuch der Entomologie, Fam. Libellulina (cf. 2: 854, no. 372, Berlin.

DE GEER, CH., 1773, Memoires pour servir à l'Histoire des Insectes, 3: (cf. 559, no. 6. pl. 26, fig. 7), Stockholm.

FABRICIUS, J. C., 1793, Entomologia Systematica 2: (cf. 378, no. 20), Hafniae.

HAGEM, H., 1861 Synopsis of the Neuroptera of North America. *Smiths. Misc. Coll.*, 347 pp. Washington.

HAGEM. H., 1875, Subfamily Libellulina. *Proc. Bost. Soc. Nat. Hist.*, 19 (1): 95.

KARSCH, F., 1890, Beiträge zur Kenntniss der Arten und Gattungen der Libellulinen. *Berl. ent. Z.*, 33:355.

KIRBY, W. F., 1889, A revision of the Subfamily Libelluline. *Trans. Zool. Soc. Lond.*, 12: 257 e 272.

KIRBY, W. F., 1890, A synonimic Catalogue of the Neuroptera Odonata or Dragonflies: 9 e 178, London.

KIRBY, W. F., 1897, List of the Neuroptera colleted by Mr. E. E. Austen on the Amazons & c, during the expedition of Messrs. Siemens Bros. SS. Faraday. *Ann. Mag. Nat. Hist.*, (6), 19: 602.

LINNEU, C., 1758, Systema Naturae, (cf. 545).

RAMBUR, M. P., 1842, Histoire Naturelle des Insectes Nevropteres: 134, Paris.

SELYS LONGCHAMPS, E., 1881, Assoc. France (Algerie): 167. [2]

TILLYARD, R. J., 1940. A Reclassification of the Order Odonata. *Austral. Zool.*, 9 (4): : 392-393.

[2] Este trabalho não foi consultado.

Rev. Brasil. Biol., 1 (2): 215-221
Junho, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

SOBRE O APARELHO GENITAL FEMININO DOS "SARCOPHAGIDÆ" E SUA IMPORTÂNCIA NA CLASSIFICAÇÃO (Diptera) [1]

H. DE SOUZA LOPES

Escola Nacional de Veterinaria, Rio de Janeiro, D. F.

(Com 18 figuras no texto)

A classificação generica dos *Sarcophagidae* ainda está muito obscura e os dados morfológicos em que se baseia são muitas vêzes insuficientes ou suceptiveis de variação. Nêste trabalho, procuramos chamar a atenção para a constituição dos órgãos genitais femininos que, a nosso vêr, fornecem elementos importantes para um grupamento natural das espécies.

O aparelho genital das espécies desta família se adaptou ao acúmulo de ovos fecundados em uma grande expansão membranosa (útero) que aparece como um divertículo ventral da vagina. O ovo é fecundado no início da vagina, que recebe os condutos das espermatecas em estrutura especial de forma curiosa, muitas vezes quitinizada. As espermatecas e os condutos que as unem à vagina fornecem bons caracteres.

Em todas as espécies por nós examinadas encontramos uma conformação fundamental idêntica que julgamos típica da família e que acreditamos existir em todas as espécies de *Sarcophagidae*. Como estas modificações são acarretadas pelo desenvolvimento das larvas no interior do útero admittimos que todas as espécies desta família sejam vivíparas.

Os ovários apresentam um número variavel de ovaríolos. Como em *Sarcophagidae* o tamanho das larvas do 1.º estádio se mantem constante, os exemplares pequenos têm um menor número de ovaríolos que os de tamanho normal e, consequentemente, um menor número de larvas. E' interessante notar que os exemplares que medem metade do tamanho normal são frequentes.

Ha curtos ovidutos (fig. 2) que partem dos ovários e se reunem em um oviduto impar que se dirige para a face ventral formando uma

[1] Recebido para publicação a 13 de Maio de 1941.
Trabalho do Laboratório de Helmintologia do Instituto Oswaldo Cruz.

volumosa alça (fig. 1). Ha um estrangulamento facilmente perceptivel entre o oviduto e a vagina. A vagina é longa e apresenta ventralmente um largo divertículo que, quando cheio se transforma no chamado "duplo saco uterino". Na altura deste duplo saco ha, na vagina, uma formação quitinosa que ocupa a parede dorsal e onde desembocam os condutos de 3 espermatecas e de 2 glândulas acessórias. Esta formação quitinosa, fortemente pigmentada em algumas espécies, se apresenta inteiramente hialina em outras, tornando-se de dificil observação. Alguns autores denominaram "signum" a esta placa. Algumas vêzes está unida aos bordos laterais de uma placa situada no dorso e imediatamente antes da vulva. Outras vêzes a vagina é inteiramente membranosa desde os condutos das espermatecas até a vulva.

O início do oviduto impar é unido por ligamentos membranosos à parede externa do útero e assim se mantem a alça do oviduto impar. As espermatecas se unem à parede externa do oviduto impar por meio de grandes células, onde repousam. Os canais das espermatecas formam uma alça mais ou menos longa e se abrem quasi sempre em pontos próximos, quando não se unem antes de atingir a parede externa da vagina. Raramente se abrem em pontos distantes, como em *Sarcodexia* (fig. 8). Os canais das espermatecas são envolvidos em uma bainha de células que tambem envolve as espermatecas.

A diferente conformação das aberturas das espermatecas depende da forma do penis e da morfologia do canal ejaculador. Nas espécies desta família o grande desenvolvimento do penis permite uma justa adaptação deste orgão à abertura dos canais das espermatecas, apesar da sua distância da vulva. As 2 glândulas acessórias estão lateralmente situadas e seus condutos se abrem sempre abaixo dos canais provenientes das espermatecas.

Usamos no exame do aparelho genital feminino o seguinte método: retiramos o abdômen do exemplar vivo por meio de um corte na base e cortamos longitudinalmente os tergitos na linha lateral, com fina tesoura. Retiramos os tergitos e esternitos até o 5º rompendo a membrana intersegmentar em solução fisiológica. Isolado o aparelho genital e retirada a solução fisiológica, colocamos carmim acético de Semichon durante cerca de 20 minutos; desidratamos pelo ácido acético que substituimos dentro de 5 minutos pelo creosoto. Com este processo obtivemos preparações boas onde se destacam muito bem os núcleos das células. Conseguimos tambem um processo mais cômodo e que pode ser usado em excursão. Consiste em cortar o abdômen e colocá-lo em carmim acético durante 2 dias. Desidratando o material em ácido acético, pode ser conservado em creosoto onde é facilmente dissecavel.

Helicobia Coquillet, 1895

Examinamos 3 espécies dêste gênero: *H. aurescens* (Towns.), *H. morionella* (Ald.) e *H. pilifera* Lop. Em 1938 (*Rev. Ent.*, Rio de Janeiro, 10: 497-517) publicamos uma revisão de *Helicobia*.

As espécies apresentam pequenas espermatecas sub-esféricas pouco estriadas transversalmente e que têm longos condutos, de diâmetro mais ou menos uniforme, onde não ha diferenciação em 2 zonas. Estes condutos são envolvidos por uma bainha composta de células de grandes núcleos. As glândulas acessórias têm paredes muito espessas porque são formadas por grandes células pouco numerosas e seus condutos se abrem aproximadamente e na linha mediana. A vagina é muito longa sendo grande a distância entre a vulva e a abertura dos condutos das espermatecas, explicavel facilmente pelo alongamento do penis que, nêste gênero, é articulado. A placa quitinosa encontrada na face dorsal da vagina e onde se abrem as espermatecas é em alguns casos bem pigmentada e em outros inteiramente hialina. A vagina na sua parte distal é inteiramente membranosa, não havendo a habitual formação quitinosa imediatamente anterior à vulva.

Helicobia aurescens (Towns., 1927)
(Figs. 1-3)

As espermatecas repousam na superfície externa do oviduto impar sobre grandes células que as unem somente pela base. Os condutos das espermatecas formam uma longa alça e seu diâmetro se alarga progressivamente na porção mediana e não ha formação especial entre as regiões distal e proximal.

A parte terminal do conduto se abre na vagina entre as alças de uma placa muito quitinizada que tem a forma de um *V* invertido. As glândulas acessórias são formadas de grandes células de núcleo volumoso. Os condutos são longos e se vão abrir logo abaixo da grande placa quitinosa em *V*, entre esta e uma outra placa de contorno circular e que repousa sobre uma terceira placa, aproximadamente trapezoidal. A vagina é membranosa desde as placas até a vulva.

Helicobia morionella (Aldrich, 1930)
(Figs. 4-5)

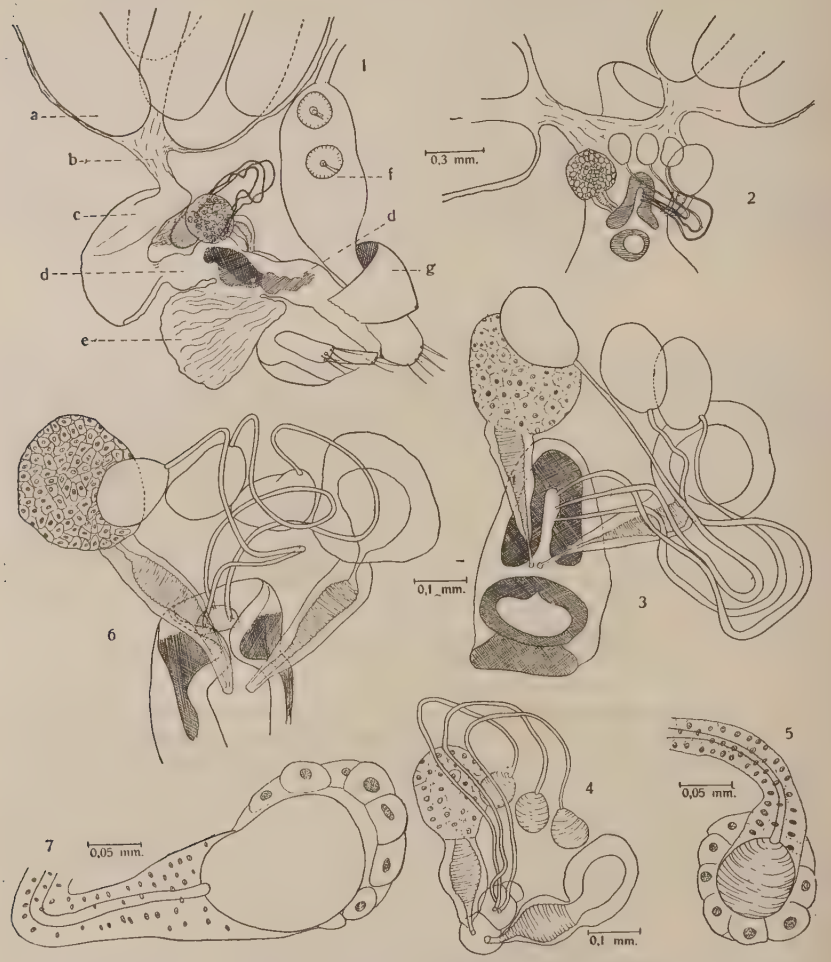
Esta pequena espécie apresenta conformação muito semelhante a *H. aurescens* (Towns.). As espermatecas são subesféricas, seus condutos muito longos e de diâmetro igual em toda a extensão. A bainha de células que envolve os condutos é composta de células pouco numerosas e de núcleos volumosos. Os condutos se abrem em uma placa circular, hialina. As glândulas acessórias têm paredes muito espessas e seus condutos, muito alargados, devem compensar o reduzido espaço deixado no interior das glândulas. Os condutos das glândulas, tambem se abrem em placa circular e hialina que se une superiormente à placa onde se abrem os condutos das espermatecas.

Helicobia pilifera Lopes, 1939
(Figs. 6-7)

Esta espécie tem o aparelho genital feminino constituido de forma muito semelhante às 2 espécies anteriormente descritas. Suas espermatecas são subesféricas, os condutos aproximadamente do mesmo diâmetro em toda a extensão. As glândulas acessórias têm grossas paredes e os condutos aberturas medianas. Os condutos das espermatecas se abrem em pequena placa semicircular e pouco quitinizada que fica situada no centro de um anel fortemente quitinoso que envolve tambem a abertura do conduto da glândula acessória.

E' interessante notar que esta espécie tem pêlos na propleura como algumas outras espécies de *Helicobia*, o que as separa da espécie tipo do gênero (*H. rapax* Walk.). Este carater é considerado, por alguns autores, como muito importante e levou HALL (1933) a crear o gênero *Notochaetophyto*. O estudo

comparativo do aparelho genital feminino destas espécies demonstra claramente haver um só gênero nas espécies examinadas.



Helicobia aurescens (Towns.) — Fig. 1: Aparelho genital feminino visto de perfil, *a* — ovário, *b* — oviduto, *c* — oviduto impar, *d* — vagina, *e* — útero, *f* — reto, *g* — 6.º tergito; fig. 2: aparelho genital feminino, vista dorsal; fig. 3: espermatecas e glândulas acessórias. *Helicobia morionella* (Ald.) — Fig. 4: Espermatecas e glândulas acessórias; fig. 5: espermateca. *Helicobia pilifera* Lopes — Fig. 6: Espermatecas e glândulas acessórias; fig. 7: espermateca.

Sarcodexia Towns., 1892
(Figs. 8-10)

Conhecemos apenas uma espécie dêste gênero *S. sternodontes* Towns., comumente encontrada em toda a região neotrópica. Os caracteres externos para a determinação deste gênero se limitam, além da grande redução dos segmentos genitais dos machos, à presença, na tíbia média, de uma longa cerda que atinge o ápice da tíbia. O penis entretanto, tem um forte achata-

mento dorso ventral (fig. 9) e apresenta 2 prolongamentos laterais simétricos e dirigidos para fora. Quando examinamos o aparelho genital feminino encontramos 2 placas laterais na vagina (fig. 8). Em uma destas placas se abre o conduto de uma das espermatecas, ao passo que os outros 2 condutos se reunem antes de chegarem à outra placa. A conclusão que podemos tirar é que, na cópula, ha uma adaptação dos prolongamentos laterais do penis às placas das espermatecas. Deste modo o penis tem o canal ejaculador dividido na extremidade em 2 outros canais que se dirigem para os lados.

Em *S. sternodontes* Towns. as espermatecas são esféricas e não apresentam estriações. Seus condutos apresentam o mesmo diâmetro em toda a extensão e são larga e fortemente estriados no sentido transversal. A bainha de células que envolve os condutos é tambem estriada e rugosa. As glândulas acessórias são alongadas e seus condutos se abrem lateralmente, logo abaixo de cada placa de abertura das espermatecas.

Ao lado do desenho do aparelho genital feminino damos um desenho do penis desta espécie, feito na mesma escala, para melhor compreensão da posição que ocupa por ocasião da cópula.

Udamopyga neivai Lopes, 1940
(Figs. 11-12)

As espermatecas, fortemente estriadas são unidas à parede externa do oviduto ímpar por meio de grandes células. O conduto da espermateca é a princípio delgado e depois se alarga, havendo uma região intermediária onde o fino conduto se invagina.

Os condutos são envolvidos por bainha de células muito numerosas e de pequeno núcleo. Os condutos se abrem em placa inteiramente hialina. As glândulas acessórias têm paredes muito delgadas compostas de pequenas células de contorno pouco nítido e de pequeno núcleo. Os condutos se abrem pouco abaixo da abertura das espermatecas. Ha em seguida uma região onde a parede dorsal da vagina apresenta uma curiosa formação escamosa onde se vêm espinhos delgados que se dirigem para o ápice. A terminação da vagina apresenta placa dorsal hialina e de contorno pouco nítido imediatamente antes da vulva.

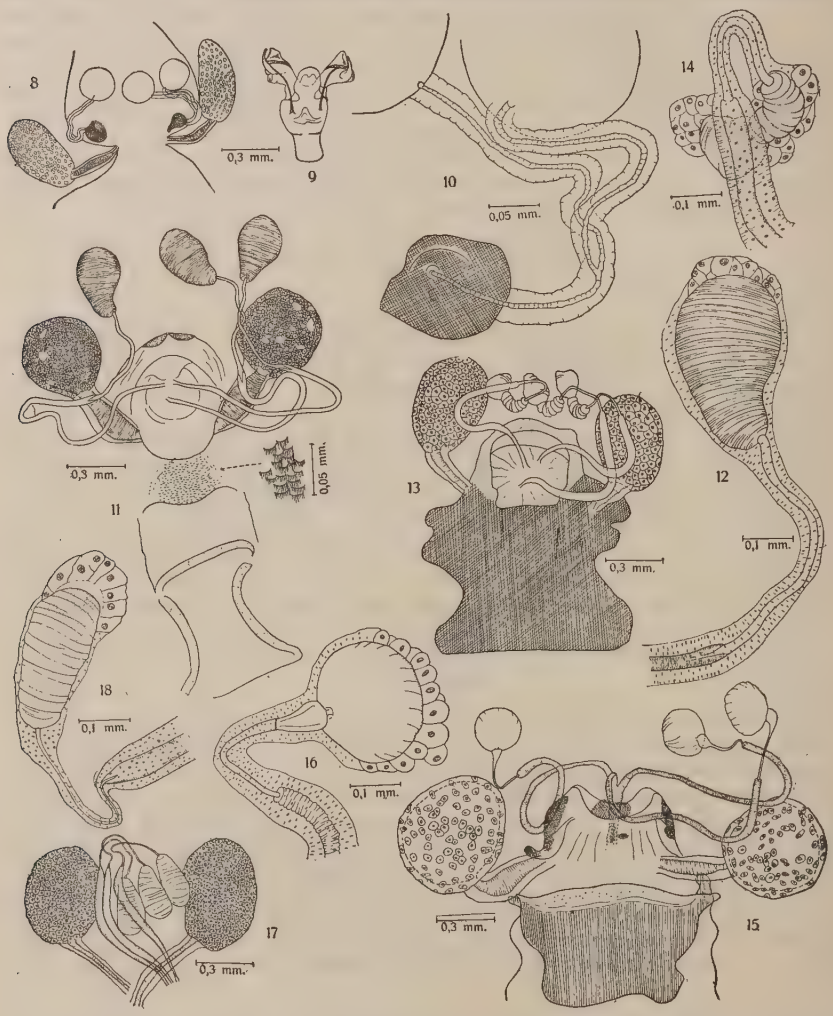
Lipoptilocnema crispula (Lopes, 1938)
(Figs. 13-14)

Espermatecas nitidamente divididas em 2 porções das quais a basal é esférica e pouco estriada e a apical profundamente estriada e alongada. As espermatecas estão unidas à face externa do oviduto ímpar por grandes células, pouco numerosas, em toda a sua extensão. O conduto das espermatecas é de início delgado e depois se torna alargado, havendo separação bem nítida entre estas 2 zonas. Todo o conduto apresenta estriações transversais e tem uma bainha composta de células de pequeno núcleo e muito numerosas. Os condutos se abrem no centro de uma placa inteiramente hialina que se une a uma outra placa fortemente pigmentada existente na região dorsal da vagina, desde a entrada dos condutos até a vulva. As glândulas acessórias têm células bastante volumosas e seus condutos se abrem na extremidade superior da placa pigmentada.

Paraphrissopoda chrysostoma (Wied., 1830)
(Figs. 15-16)

As espermatecas são visivelmente divididas em 2 partes, a basal esférica e fracamente estriada, unida à face externa do oviduto por células grandes,

somente na base. Unindo esta parte ao conduto se encontra uma formação estreita e fortemente pigmentada. O conduto é inicialmente delgado e depois se torna largo e fortemente estriado. E' envolvido por uma bainha de numerosas pequenas células de núcleo muito pequeno. Os 3 condutos se unem antes de desembocar na vagina, em região fortemente quitinizada mas hialina onde ha pontos esparsos pigmentados. Esta placa hialina se une lateralmente a uma placa larga e fortemente pigmentada situada na parte distal da vagina e que forma o rebordo superior da vulva. As glândulas acessórias têm paredes



Sarcodexia sternodontes Towns. — Fig. 8: Espermatecas e glândulas acessórias; fig. 9: penis; fig. 10: espermatecas e condutos. *Udamopyga neivai* Lopes — Fig. 11: Espermatecas e glândulas acessórias; fig. 12: espermateca. *Lipoptilocnema crispula* (Lopes) — Fig. 13: Espermatecas e glândulas acessórias; fig. 14: espermateca. *Paraphrissopoda chrysostoma* (Wied.) — Fig. 15: Espermatecas e glândulas acessórias; fig. 16: espermateca. *Ravinia belfordi* (Prado & Fonseca) — Fig. 17: Espermatecas e glândulas acessórias; fig. 18: espermateca.

muito delgadas e constituidas de células pouco aproximadas e de contorno aproximadamente circular.

Ravinia belfordi (Prado & Fonseca, 1932)

(Figs. 17-18)

Nesta espécie as espermatecas são alongadas e têm estriações transversais; são unidas por grandes células à face externa do oviduto e seus condutos são inicialmente delgados mas depois se tornam alargados e finalmente estriados transversalmente. Abrem-se os condutos em pontos próximos mas não conseguimos ver nenhuma placa quitinizada neste ponto. Na região intermediária entre as 2 zonas dos condutos ha invaginação da parte mais delgada. As glândulas acessórias têm células de tamanho médio e seus condutos são estreitos. Ha imediatamente antes da vulva uma placa dorsal pouco quitinosa mas facilmente perceptivel.

Rev. Brasil. Biol., 1 (2): 223-226
Junho, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

SOBRE ALGUNS ACANTOCÉFALOS DO ESTADO DO PARÁ [1]

D. A. MACHADO FILHO
Escola Nacional de Veterinária, Rio de Janeiro, D. F.

(Com 10 figuras no texto)

Recebemos do Serviço de Estudos das Grandes Endemias do Instituto Oswaldo Cruz, uma coleção de acantocéfalos, composta de 18 amostras, representando 7 espécies, entre as quais uma parasita de didelfídeo ainda nova para a ciência. Damos a seguir a determinação das espécies, acompanhada do hospedador e proveniência, e descrevemos a nova espécie, que denominamos *Gigantorhynchus lutzi* n. sp. em homenagem ao grande sábio recentemente falecido Adolpho Lutz.

1 — *Centrorhynchus tumidulus* (Rudolphi, 1819)

Habitat — Intestino delgado de *Crotophaga* sp.
Proveniência — Santo Antônio, Pará, Brasil.
Desta espécie somente foi colecionada uma amostra.

2 — *Travassosia carinii* (Travassos, 1916)

Habitat — Intestino delgado de *Tatus* sp.
Proveniência — Aurá, Pará, Brasil.
Somente colecionada uma amostra.

3 — *Hamanniella microcephala* (Rudolphi, 1819)

Habitat — Intestino delgado de *Didelphis* sp.
Proveniência — Santo Antônio, Pará, Brasil.
Só uma amostra foi coletada.

4 — *Prosthenorchis elegans* (Diesing, 1851)

Habitat — Intestino delgado de *Saimiri sciurea* (L.)
Proveniência — Sant'Ana, Pará, Brasil.
Foram colecionadas 3 amostras.

5 — *Prosthenorchis spirula* (Olfers, 1819)

Habitat — Intestino delgado de *Tayra barbara* (L.)
Proveniência — Sant'Ana, Pará, Brasil.
Foram coletadas 2 amostras.

---

[1] Recebido para publicação a 14 de Maio de 1941.
Trabalho do Laboratório de Helmintologia do Instituto Oswaldo Cruz.

6 — *Gigantorhynchus echinodiscus* (Diesing, 1851)

Habitat — Intestino delgado de *Tamandua tetradactyla* (L.)
Proveniência — Aurá e Santo Antônio, Pará, Brasil.
Desta espécie foram coletadas 9 amostras.

7 — *Gigantorhynchus lutzi* n. sp.

(Figs. 1-10)

Comprimento: machos 35 a 60 mm., fêmeas 130 a 200 mm.
Largura: machos 0,75 a 1,5 mm., fêmeas 1 a 2,5 mm.

Corpo cilíndrico, atenuado nas extremidades. Aspeto externo afastando-se do tipo usual moniliforme da espécie tipo do gênero, porquanto os falsos aneis apresentam expansões laterais que recobrem parte do anel posterior, essas expansões da cutícula não se unem nas faces dorsal e ventral, deixando assim uma goteira em cada face, sendo geralmente uma das expansões mais dilatada que a outra, encobrindo sempre parte dos segmentos seguintes; êstes apresentam as seguintes dimensões: comprimento 0,405 mm.; largura 0,405 mm. na porção superior encoberta pelo anel anterior e 0,608 mm. na parte inferior que recobre o anel posterior. O pescoço é longo medindo 1,695 mm. de comprimento por 0,735 mm. de largura, apresenta-se guarnecido por grande número de pequenos ganchos de raiz simples, medindo 0,048 mm. que estão sempre situados em uma saliência da cutícula. Segue-se a primeira porção do corpo onde já se nota um esboço de falsa segmentação em espaços muito estreitos. A tromba é retratil e muito reduzida, medindo 0,705 mm. de diâmetro. Apresenta-se guarnecida por ganchos que se dispõem em duas séries alternadamente. Os ganchos do primeiro tipo que formam a primeira série, são muito bem constituidos e resistentes, suas raizes apresentam um rudimento de bifurcação; os da segunda série são menores ainda que bem resistentes e com raizes do mesmo tipo, porém menos desenvolvidas. Dimensões dos ganchos da primeira série: 0,165 mm. (entre as extremidades das raizes), 0,210 mm. (lâmina), 0,285 mm. (entre a extremidade da lâmina e a da raiz posterior); os da segunda série medem: 0,135 mm. (entre as extremidades das raizes) 0,180 mm. (lâmina), 0,225 mm. (entre a extremidade da lâmina e a da raiz posterior). A bainha da tromba é simples e não ultrapassa o comprimento do pescoço. Na sua extremidade posterior fica situado o gânglio nervoso. Os leniscos são filiformes, longos e multinucleados, sendo o seu comprimento de 2,595 mm. e sua largura de 0,255 mm.

O aparelho genital fêmea é constituido por ovários-úteros que se estendem por todo o comprimento do corpo, envolvendo os núcleos ovígeros geralmente elíticos medindo: 0,450 a 0,750 mm. de comprimento por 0,150 a 0,185 mm. de largura; ovejetor de dimensões reduzidas, que mede 1,575 mm. de comprimento por 0,270 mm. de largura, apresenta a campainha com dois divertículos laterais; vagina com duas porções, uma circular e outra estreita de natureza muscular; vulva geralmente sub-terminal. Os ovos são elíticos e teem três envoltórios, suas dimensões aproximadas são: 0,115 mm. de maior diâmetro 0,064 mm. de menor.

O aparelho genital macho fica situado na última porção do corpo, os testículos são elíticos tendo os polos levemente encurvados, medem: 5,752 mm. a 6,045 mm. de comprimento por 0,750 mm. a 0,900 mm. de largura. As glândulas prostáticas, em número de 8, teem forma esférica ou elítica, apresentando um grande núcleo; dispõem-se ora em grupo compacto, ora aos pares, ou ainda em linha, conforme o estado de distenção ou contração dos demais orgãos do complexo genital macho; as dimensões das glândulas prostáticas são: 1,200 mm.

para o maior diâmetro e 0,900 mm. para o menor. Os canais das glândulas prostáticas assim como os canais deferentes são muito nítidos, formando um conjunto volumoso que mede 2,100 mm. a 2,550 mm. A bolsa copuladora é bem desenvolvida e apresenta 8 processos digitiformes.

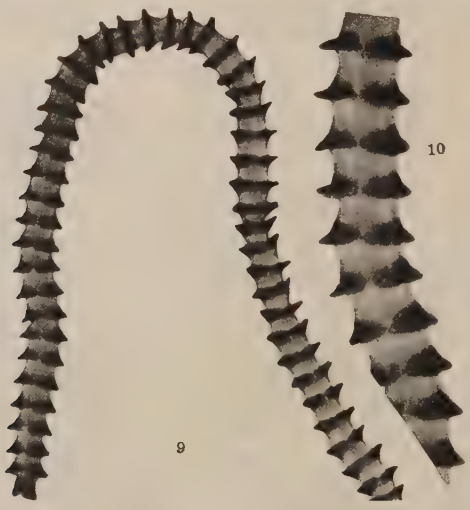
Habitat — Intestino delgado de *Caluromys philander* (L.)

Proveniência — Aurá, Pará, Brasil.

Tipos e paratipos na coleção helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz.

Gigantorhynchus lutzi n. sp. — Fig. 1: Região anterior do corpo e tromba; fig. 2: tromba, vista de frente; fig. 3: tromba e pescoço, em detalhe; fig. 4: aparelho genital macho; fig. 5: ovejetor; fig. 6: ovo; fig. 7: corte transversal, mostrando as expansões transversais; fig. 8: aspéto externo da região média do corpo.

Do gênero *Gigantorhynchus* só se conhecia uma espécie: *Gigantorhynchus echinodiscus* (Diesing, 1851) cujos hospedadores são sempre mirmecofagídeos. Em nossa espécie, parasita de didelfídeo, o carater marcante é a aparência de falsa segmentação já descrita, o que de



Gigantorhynchus lutzi n. sp. — Fig. 9: Fotografia de uma porção média do corpo; fig. 10: fotografia mostrando as goteiras existentes entre as expansões laterais.

início nos levou a supo-lo carater genérico, o que, entretanto, não prevaleceu, porquanto os demais caracteres se enquadram dentro da diagnose de *Gigantorhynchus* Hamann, 1802. Além dêste, outros caracteres a diferenciam da espécie tipo, tais como: número de ganchos da tromba, as dimensões dêstes, do pescoço, testículos, glândulas prostáticas e ovos.

RESUMO

O autor examina e determina uma coleção de Acantocéfalos provenientes do Estado do Pará, Brasil, que é constituida por 6 espécies comuns [*Centrorhynchus tumidulus* (Rudolphi, 1819), *Travassosia carinii* (Trav., 1916), *Hamanniella microcephala* (Rudolphi, 1819), *Prosthenorchis elegans* (Diesing, 1851), *Prosthenorchis spirula* (Olfers, 1819) e *Gigantorhynchus echinodiscus* (Diesing, 1851)] e uma nova espécie *Giganthorhynchus lutzi* n. sp., parasita de *Caluromys philander* (L.) que difere da espécie tipo do gênero por apresentar uma formação pseudo-segmentar muito característica, e, tambem, menor número de ganchos na tromba, e dimensões dos ganchos, tromba, testículos, e glândulas prostáticas diferentes.

BIBLIOGRAFIA

DIESING, K. M., 1851, Systema Helminthum, 2.

MEYER, A., 1932/33, Acanthocephala. Bronn's Klassen u. Ordnungen des Tier-Reichs, 4 (2): 582 pp. 381 figs. 1 tab.

TRAVASSOS, L., 1917, Contribuições para o conhecimento da fauna helmintológica brasileira. Revisão dos Acantocéfalos brasileiros. Parte I. Fam. Gigantorhynchidae Hamann, 1892. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 9 (1): 5-62, ests 1-24A, figs. 1-148.

Rev. Brasil. Biol., 1 (2): 227-230
Junho, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

SOBRE A OCURRÊNCIA DA MEDUSA DE AGUA DOCE "CRASPEDACUSTA SOWERBYI" LANKESTER, 1880, EM MINAS GERAIS [1]

A. VIANNA MARTINS

Instituto Biológico Ezequiel Dias, Belo Horizonte, Minas Gerais

O encontro de medusas de agua doce desperta sempre bastante curiosidade e interesse. E' isso devido principalmente ao fato de viverem na agua salgada, na sua quasi totalidade, as espécies conhecidas de medusas, habitando as aguas doces apenas cinco ou seis.

Tambem o aspeto realmente curioso desses pequenos animais, sua caprichosa distribuição geográfica, seu aparecimento e desaparecimento geralmente súbitos, seu interessante ciclo evolutivo, tudo isso contribue para chamar sobre êles a atenção dos biologistas.

Medusas de agua doce têm sido encontradas em vários países da Europa, Ásia, África e América do Norte e Central. Não nos consta, porém, que até hoje tenham sido observadas na América do Sul e, por isso, julgamos interessante relatar a ocurrência de uma espécie, identificada como *Craspedacusta sowerbyi* Lankester, 1880, no Estado de Minas Gerais.

Essa espécie foi observada pela primeira vez no tanque de Vitórias Régias do Jardim Botânico de Londres, no ano de 1880, tendo sido descrita quasi simultaneamente por RAY LANKESTER e por ALLMAN.

LANKESTER (1) denominou-a *Craspedacusta sowerbyi* e ALLMAN (2), *Limnocodium victoria*. Conforme deliberação da Comissão Internacional de Nomenclatura Zoológica deve ser adotado o nome proposto por LANKESTER, que tem nítida prioridade sobre o de ALLMAN, pois as publicações respetivas foram feitas nos dias 17 e 24 de junho de 1880.

Como as medusas foram encontradas em tanque artificialmente aquecido onde eram cultivadas plantas provenientes do rio Amazonas, julgou-se teriam elas a mesma proveniência, tendo sido importadas juntamente com as plantas, o que pareceu ser confirmado pelo encontro posterior da mesma espécie ainda em tanques de Vitórias Régias por VANEY e CONTE (3) no Jardim Botânico de Lyon em 1901 e por BOECKER (4) no Jardim Botânico de Munich em 1905.

Desde 1909, porém, com a descoberta da mesma espécie em Washington, E.U.A., em um tanque onde não existiam Vitórias Régias, por HARGITT (5).

[1] Recebido para publicação a 19 de maio de 1941 e apresentado à Sociedade de Biologia de Minas Gerais em 8 de maio de 1941.

aquela tentadora hipótese foi abandonada. Em 1916 GARMAN (6) observou essa mesma medusa em um regato no estado de Kentucky e dessa data em diante tem sido ela encontrada repetidas vêzes em vários pontos dos Estados Unidos e até no Lago de Gatun, no Panamá, por SMITH (7), em 1925.

O estádio hidroide ou polipo dessa medusa foi descoberto por PARSONS em 1880, no mesmo tanque do Jardim Botânico de Londres onde fora encontrada a medusa, e estudado por BOURNE (8), PARSONS (9) e FOWLER (10).

RYDER (11) e POTTS (12) acharam em regatos próximos a Filadélfia, E.U.A., um hidroide sem tentáculos que foi chamado *Microhydra ryderi* por POTTS, que posteriormente verificou a formação de pequenas medusas por esse hidroide (13, 14), sem conseguir porém a evolução das medusas até a idade adulta. ROCH (15) encontrou um hidroide semelhante na Alemanha, próximo a Berlim, considerando-o espécie diferente a que chamou *Microhydra germanica*. Aliás hidroides e medusas já haviam sido encontrados em vários pontos da Alemanha por SCHORN (16), ALT (17), BACKHOFF (18) e SCHULTZE (19).

PAYNE (20) conseguiu obter o desenvolvimento completo de *Microhydra ryderi* de hidroide a medusa adulta, concluindo pela sua inclusão no gênero *Craspedacusta* como espécie distinta — *C. ryderi*.

BOULENGER e FOWLER (21) mostraram, porém, a identidade das diversas formas descritas (*C. sowerbyi, M. ryderi* e *M. germanica*), devendo prevalecer, portanto, a primeira denominação.

OKA (22) em 1907 descreveu uma espécie — *C. kawai*, do Yang-Tsé-Kiang, na China, espécie essa que BOULENGER e FLOWER (21) consideram tambem idêntica a *C. sowerbyi*, e em 1922 (23), da província de Ise, no Japão Central outra espécie, *C. iseanum*, nitidamente caracterizada pela estrutura dos seus orgãos dos sentidos e que deve ser, por isso, considerada bôa espécie.

Assim devemos considerar o gênero *Craspedacusta* como encerrando apenas duas espécies: *C. sowerbyi*, 1880 e *C. iseanum* Oka, 1922.

Quanto ao "único outro gênero de medusas de agua doce de larga distribuição" — *Limnocnida*, aliás muito próximo de *Craspedacusta*, admite-se que seja atualmente constituido por tres espécies: *L. tanganyicae* Günther, 1893 (24), do lago Tanganica, na África Oriental; *L. indica* Annandale, 1911 (25), do distrito de Satara, na Índia e *L. rhodesiae* Boulenger, 1912 (26), da Rodésia.

A posição sistemática do gênero *Craspedacusta*, durante muito tempo bastante debatida, foi definitivamente firmada por DOUGLAS (27), que o colocou na família *Petasidae*, da sub-ordem *Trachymedusae*, ordem *Trachylina*.

A distribuição geográfica de *Craspedacusta sowerbyi* é, como vimos, muito grande, pois ocorre na Europa (Inglaterra, França e Alemanha), Ásia (China), América do Norte, onde, segundo SCHMITT (28) já foi observada em dezenove estados e América Central (Panamá). Com sua constatação no Brasil estende-se sua área de dispersão à América do Sul.

Em julho de 1939, o dr. JAIR LINS, ilustre advogado em Belo Horizonte, teve oportunidade de observar, em um tanque cimentado localizado em uma pequena fazenda de sua propriedade, a presença em grande número de pequenos animais, que ele desde logo identificou como "medusas". Teve o dr. LINS a gentileza de não só enviar-nos numerosos espécimes como, tambem, de convidar-nos a visitar o local.

A fazenda em questão fica situada no município de Santa Luzia, a 25 quilômetros de Belo Horizonte e o tanque onde foram encontradas as medusas, inteiramente de cimento, fôra construido afim de servir de piscina de natação mas ultimamente era utilizado para criação de peixes, tendo sido nêle colocadas carpas adquiridas no Brasil. E' um

tanque de forma irregular, com cerca de 20 metros de comprimento por 5 de largura. Além dêsse tanque existem na mesma propriedade várias reprêsas onde são criadas não só carpas como tambem "black-bass" (*Micropterus salmoides*), chamadas, talvez impropriamente, trutas. Essas trutas foram importadas da França pelo dr. Lins. A agua do tanque onde foram observadas as medusas provem dessas reprêsas.

Foi-nos possivel verificar que as medusas começavam a aparecer ao cair da tarde, mais ou menos às 17 horas, tornando-se cada vez mais numerosas a medida que a noite se aproximava.

Todas as pesquisas feitas nas várias reprêsas foram negativas, devendo-se dizer, porém, que as condições dessas reprêsas tornavam algo dificeis as pesquisas. Não foi feita então nenhuma tentativa para encontrar as formas fixas (polipos ou hidroides) que dão origem às medusas.

Conservamos vivas no laboratório, durante vários dias, numerosas medusas, que eram todas do sexo feminino, tendo expulsado grande quantidade de ovos, que, é claro, não evoluiram, tendo degenerado rapidamente.

O exame das medusas mostrou correspondência bastante exata com as descrições e figuras de *Craspedacusta sowerbyi,* não nos tendo sido possivel encontrar dados morfológicos que permitissem considera-las como pertencentes a espécie diferente.

As medusas continuaram a ser observadas no mesmo tanque durante muitos dias, desaparecendo finalmente sem deixar vestígios aparentes.

No ano seguinte (1940) reapareceram na mesma época e no mesmo local, porém em número muito menor, ainda todos os exemplares do sexo feminino.

Em vista de nunca terem sido encontradas medusas de agua doce na América do Sul, acreditamos tenham sido elas introduzidas no sítio em questão com os peixes importados da Europa. Invertemos, assim, a hipótese lembrada primitivamente para explicar o seu aparecimento no Jardim Botânico de Londres. E' claro, porém, dada a enorme área de distribuição da espécie, que não julgamos impossivel ocorrer ela naturalmente no nosso país, embora consideremos isso bastante improvavel dada a série de circunstâncias que cercaram seu aparecimento em um ponto único do Brasil Central. Julgamos bastante interessante procura-la em outras zonas do país.

E' tambem possivel que se trate na realidade de espécie distinta, só distinguivel por detalhes de estrutura ou de evolução, ainda não verificados.

Pesquisas ulteriores deverão esclarecer esses pontos.

BIBLIOGRAFIA

1) LANKESTER, E. RAY, 1880, On a new Jelly-Fish of the order *Trachomedusae* living in fresh water. *Nature, Lond.*, 22:

2) ALLMAN, G. J., 1880, On *Limnocodium victoria,* a new hydroid Medusa of fresh water. *J. Linn. Soc.*, 15: 131.

3) VANEY, C. & CONTE, A., 1901, Sur le *Limnocodium sowerbyi* Ray Lankester, *Zool. Anz.*, 24: 533.

4) BOECKER, E., 1905, Ueber das Vorkommen von *Limnocodium* in Muenchener botanischen Garten. *Biol. Zbl.*, 25: 605.

5) HARGITT, C. W., 1907, Occurrence of the fresh water Medusa *Limnocodium* in the United States, *Science*, 26: 638.

6) GARMAN, H., 1916, The sudden appearence of great numbers of freshwater Medusa in a Kentucky creek, *Science*, 44: 858.

7) SMITH, F., 1925, Freshwater Medusae in Panamá Canal Zone. *Science*, 61: 588.

8) BOURNE, A. G., 1884, On the occurrence of a hydroid phase of *Limnocodium sowerbyi*, *Proc. Roy. Soc.*, 38:

9) PARSONS, F. A., 1885, Notes on a new hydroid polyp. *J. Quekett Micr. Club*, 2:

10) FOWLER, G. H., 1890, Hydroid phase of *Limnocodium sowerbyi*. *Quart. J. micr. Sci.*, 30: 507.

11) RYDER, T. A., 1885, The development and structure of *Microhydra ryderi* *Amer. Natur.*, 19: 1232.

12) POTTS, E., 1885, *Microhydra ryderi, Science*, 5 (123): 5.

13) POTTS, E., 1897, A north american fresh water jelly-fish. *Amer. Natur.*, 31: 1032.

14) POTTS, E., 1906, On the Medusa of *Microhydra ryderi*, and on the known forms of Medusae inhabiting fresh water. *Quart. J. micr. Sci.*, 1: 623.

15) ROCH, F., 1924, *Microhydra germanica*, eine neue Süsswassermeduse. *Zool. Anz.*, 58: 131.

16) SCHORN, W., 1911, *Microhydra ryderi* Potts. *Zool. Anz.*, 38: 365.

17) ALT, C., 1922, Einiges über die Süsswassermedusa (*Microhydra ryderi*) *Wshchr. Aquar. Terr.*, 19: 263.

18) BACKHOFF, F., 1924, Ein neuer Fundort von *Microhydra ryderi*. *Zool. Anz.*, 58: 194.

19) SCHULTZE, P., 1921, Die Hydroiden der Ungebung Berlins. *Biol. Zbl.*, 41: 211.

20) PAYNE, F., 1924, A study of the fresh water Medusa, *Craspedacusta ryderi*. *J. Morph.*, 38: 387.

21) BOULENGER, C. L. & FLOWER, W. U., 1928, The Regents Park Medusa, *Craspedacusta sowerbyi*, and its identity with *C.* (*Microhydra*) *ryderi*. *Proc. Zool. Soc. London*, Part IV, p. 1005.

22) OKA, A., 1907, Eine neue Süsswassermeduse aus China. *Annot. Zool. Japon.*, 6:

23) OKA, A., 1922, Ein neues *Limnocodium* aus Japan. *Zool. Anz.*, 54: 198.

24) GÜNTHER, R. T., 1893, Preliminary account of the fresh water Medusa of Lake Tanganyika (*Limnocnida tanganyicae*). *Ann. Mag. Nat. Hist.* (6) 2: 269.

25) ANNANDALE, N., 1911, The occurrence of a fresh water Medusa (*Limnocnida*) in Indian streams. *Nature*, 87: 144.

26) BOULENGER, C. L., 1912, On a freswater Medusa from Rhodesia. *Quart. J. micr. Sci.*, 57: 427.

27) DOUGLAS, R., 1912, Zur Frage der systematischen Stellung von *Limnocodium sowerbyi*. *Z. wiss. Zool.*, 102: 92.

28) SCHMITT, W. L., 1939, Freshwater jellyfish records since 1932. *Amer. Natur.*, 73: 83.

Rev. Brasil. Biol., 1 (2): 231-233
Junho, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

SOBRE UM NOVO HEMATOZOÁRIO DA GALINHA — "PLASMODIUM JUXTANUCLEARE" N. SP. [1]
(Nota prévia)

VALDEMAR VERSIANI e BRENNO FURTADO GOMES
Instituto Biológico Ezequiel Dias, Belo Horizonte, Minas Gerais

Em agosto do ano passado, o Dr. J. Noronha Peres e um de nós (B. Furtado Gomes), procedendo à pesquisa sistemática de espiroquetose em galinhas provenientes do Mercado Municipal desta cidade, encontraram em duas dessas aves um hemoparasita de pequenas dimensões, que parecia pertencer ao gênero *Plasmodium*. As aves infectadas provinham, segundo se apurou, da zona oéste dêste Estado, não se tendo conseguido saber o local exato de sua procedência. Até esta data não se encontrou nenhuma outra ave naturalmente infectada pelo parasita em questão, cujo estudo tem sido possibilitado por subinoculações, que são facilmente obtidas em galinhas.

Achando-se o Dr. Noronha Peres absorvido em outras atividades, ficaram a nosso cargo o estudo e a identificação do hematozoário. O presente trabalho tem por objeto expôr os resultados que inicialmente obtivemos.

Verificamos tratar-se realmente de um plasmódio, que, não só pelas características morfológicas como pela especificidade de hospedeiro, difere das outras espécies aviárias conhecidas.

Acreditamos ser esta a primeira ocorrência registrada de galinhas naturalmente infectadas por parasitas deste gênero, no Brasil, pois que o único plasmódio até agora encontrado nestas aves — o *P. gallinaceum* Brumpt, 1935, em galinhas da Indo-China e de Sumatra — não ocorre, ao que parece, em outras regiões do globo.

A exemplo da suposição de Brumpt no caso do *P. gallinaceum*, é de presumir-se que o hospedeiro primitivo da espécie que apresentamos seja uma ave silvestre zoologicamente próxima da galinha, uma vez que esta última não é autóctone em nosso país. Possivelmente êste hospedeiro primitivo venha a ser encontrado entre os nossos Galliformes ou Tinamiformes. Teria havido uma adaptação ulterior à galinha do-

[1] Recebido para publicação a 26 de Maio de 1941.

méstica; de outro modo, não se explicaria o fato de só agora vir a ser constatada a presença deste plasmódio em ave tão correntemente utilizada nos laboratórios.

Morfologia — Parasita de pequenas dimensões, que lembra, em suas formas jovens, as espécies *vaughani, rouxi* e *nucleophilum*. Outro ponto de semelhança com o *P. nucleophilum* está na tendência que manifesta o parasita a encostar-se ao núcleo da hemátia; esta disposição é, entretanto, mais acentuada nas formas jovens, ao contrário do que se verifica com o *P. nucleophilum*.

As formas jovens são arredondadas ou irregulares, de pequenas dimensões (0,6 a 0,9 micron), sempre vistas junto ao núcleo da hemátia parasitada. Com o crescimento, aparece a vacuolização, e neste caso a cromatina costuma dispôr-se em anel ou acumular-se em um ponto da periferia, podendo-se ver formas anulares ou ligeiramente alongadas, com protoplasma escasso e fracamente corado em azul pelo May Grünwald-Giemsa; encontram-se já neste período uma ou duas granulações de pigmento castanho-escuro ou negro, localizadas na periferia. O pigmento torna-se mais grosseiro com o crescimento do trofozoito.

Antes de segmentar-se o esquizonte se apresenta como uma massa condensada de cromatina, tomando uma coloração vermelha carregada e de dimensões variando entre 1,3 e 2,8 micra.

As rosáceas são elementos de pequenas dimensões (2,7 micra em média), e nunca chegam a deslocar o núcleo da hemátia. Protoplasma não aparente. Número de merozoitos variando comumente de tres a quatro, podendo-se encontrar, com menor frequência, apenas dois merozoitos e, muito raramente, em número de cinco. As rosáceas de quatro merozoitos são as mais comumente vistas; neste caso, os elementos costumam dispôr-se em cruzeta, tendo ao centro o pigmento, em um ou dois grânulos negros ou castanho-escuros. Em 100 rosáceas, encontrámos as seguintes segmentações: 54 com quatro merozoitos, 31 com tres, 12 com dois e 3 com cinco merozoitos. Nesta contagem, verifica-se uma média de 3,48 merozoitos para cada rosácea.

Os gametocitos são geralmente de forma oval ou arredondada (78 %). Em poucos casos ocorrem formas alongadas (cerca de 18 %), ou irregulares (4 %). Quando se encontram formas alongadas, estas nunca chegam a contornar os polos do núcleo da hemátia. Gametocitos masculinos com protoplasma fracamente corado ou mesmo incolor; núcleo grande, com a cromatina às vezes de textura granulosa. Nos gametocitos femininos o protoplasma apresenta-se corado não intensamente em azul, deixando às vezes espaços claros; o núcleo é mais compacto e bem corado. As formas sexuadas são geralmente de dimensões menores do que o núcleo da hemátia, porém algumas vezes atingem o comprimento deste. Nos casos em que se encontram gametocitos maiores, em pouco excedem eles as dimensões do núcleo. As medidas mais frequentemente encontradas são as seguintes: comprimento máximo — 5,0 micra; comprimento mínimo — 2,7 micra; largura máxima — 4,0 micra; largura mínima — 1,6 micra. Do cotejo destas medidas entre si, ressalta nitidamente a forma oval ou arredondada, dominante nos gametocitos. Quasi sempre as formas sexuadas mais desenvolvidas deslocam o núcleo da hemátia, embora de modo não muito acentuado, nunca chegando a ocorrer a expulsão do mesmo. O pigmento dos gametocitos apresenta-se em número reduzido de granulações castanho-escuras ou negras, grosseiras e agrupadas, com localização variada no parasita; nas formas ovais ou alongadas, é mais frequente a localização polar. Algumas vezes encontra-se um só grânulo, de dimensões avantajadas.

Posição na hemátia — Todas as formas têm localização indiferentemente polar ou lateral, mas sempre se encontram estreitamente aplicadas contra o núcleo da hemátia parasitada, a não ser algumas rosáceas, que às vezes se

mostram afastadas dele. Esta tendência a encostar-se ao núcleo da hemátia é, como já acentuamos, característica do parasita.

Hospedeiro típico — E' o *Gallus gallus domesticus*, espécie da qual só foram encontrados até agora dois exemplares com infecção natural.

Infecção experimental — Trabalhando com pintos, frangos, galinhas e galos, num total de 37 destas aves, obtivemos subinoculações em 100 % dos casos, tanto por via intravenosa como intramuscular. Conseguimos ainda inoculação positiva em um perú (*Meleagris gallopavo*), de dois em que experimentamos. Tentamos infectar 3 patos (*Cairina moschata*), 2 galinhas-d'Angola (*Numida meleagris*), 1 saracura (*Aramides cajanea cajanea*), 2 pombos (*Columba livia domestica*), 10 canários-belgas (*Serinus canarius*), 1 canário-da-terra (*Sicalis flaveola*), 11 pardais (*Passer domesticus*), 2 tico-ticos (*Zonotrichia capensis matutina*), 1 rôla (*Columbigallina* sp.) e 1 trinca-ferro (*Saltator maximus maximus*), num total de 34 aves, com resultado negativo.

Infecção na galinha — Período prepatente de 4 a 15 dias, por inoculação intravenosa, e de 6 a 20 dias, por inoculação intramuscular. No perú verificou-se uma prepatência de 27 dias, por via intravenosa. A mortalidade é elevada nas galinhas inoculadas. Nos casos graves observa-se frequentemente multiparasitismo das hemátias, não sendo raro encontrar-se uma hemátia contendo oito ou mais trofozoitos.

Tendo em vista os caracteres apontados, pelos quais êste hemoparasita se diferencia dos outros plasmódios aviários até agora descritos, julgamos poder considerá-lo uma nova espécie, para a qual propomos o nome de *Plasmodium juxtanucleare*.

Na chave proposta por MANWELL para identificação dos parasitas de malária aviária, o *Plasmodium juxtanucleare* achará lugar ao lado das espécies *gallinaceum* e *paddae*, isto é, entre aquelas que apresentam gametocitos redondos ou irregulares, deslocam o núcleo da célula hospedeira e não são susceptiveis de infectar o canário.

Reservamos para um trabalho subsequente a apresentação de mais outros dados relativos à espécie, assim como da respectiva documentação de desenhos e microfotografias.

RESUMO

Os autores descrevem uma nova espécie de plasmódio aviário, encontrada em duas galinhas procedentes da zona oéste do Estado de Minas Gerais, Brasil. Prometem, em ulterior trabalho, apresentar desenhos e microfotografias da espécie descrita, para a qual propõem o nome de *Plasmodium juxtanucleare*.

SUMMARY

The authors give a description of a new species of avian plasmodium, *P. juxtanucleare*, n. sp., found in two fowls (*Gallus gallus domesticus*) from the western zone of the State of Minas Gerais, Brazil, promising, in further paper, to present drawings and microphotographs of the parasite.

Rev. Brasil. Biol., 1 (2): 235-237
Junho, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

CONTRIBUIÇÃO PARA O CONHECIMENTO DA FAUNA HELMINTOLÓGICA DE MINAS GERAIS
"Eurytrema minensis" n. sp., parasito de "Dasypus novemcinctus" L. [1]

DOMINGOS JUSTINO RIBEIRO
Instituto Biológico Ezequiel Dias, Belo Horizonte, Minas Gerais

(Com 2 figuras no texto)

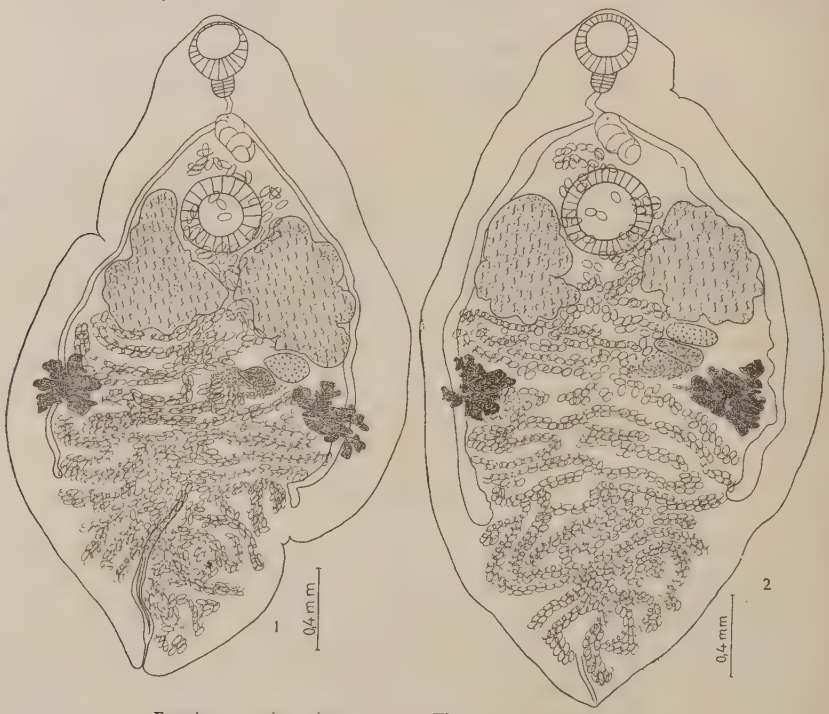
Em dezembro de 1939, por gentileza dos Drs. A. VIANA MARTINS e VALDEMAR VERSIANI, tivemos oportunidade de autopsiar alguns tatús apanhados para pesquisas sôbre a Moléstia de Chagas, que estão sendo realizadas pelo Instituto Biológico "Ezequiel Dias" em colaboração com o Serviço de Estudos das Grandes Endemias. No pâncreas de dois dêstes animais, encontramos em grande abundância um novo trematódeo, *Eurytrema minensis* n. sp., que constitui o objeto desta publicação. Até hoje só um dicrocelídeo foi descrito no pâncreas de *Dasypus novemcinctus*. Trata-se, porém, de uma espécie de outro gênero — *Dictyonograptus dictyonograptus* Travassos, 1919.

Eurytrema minensis n. sp.

Corpo ligeiramente alongado, chato, atenuado nas extremidades, principalmente na posterior, medindo 2,71 a 3,35 mm. de comprimento por 1,51 a 1,84 mm. de largura máxima obervada no nivel dos vitelinos. Cutícula provida de pequenas papilas. Ventosa oral subterminal, arredondada, com cerca de 0,249 a 0,282 mm. de diâmetro. Acetábulo arredondado, bem maior que a ventosa oral, de posição relativamente anterior, medindo 0,365 a 0,448 mm. de diâmetro. Faringe presente, medindo 0,087 a 0,113 mm. de comprimento por 0,104 a 0,113 mm. de largura. Esôfago curto e cilíndrico. Cecos relativamente grossos e curtos, sinuosos, com a extremidade posterior geralmente dilatada, distando 0,747 a 1,079 mm. da extremidade posterior do corpo. Poro genital na bifurcação dos cecos. Bolsa do cirro pequena, medindo de 0,261 a 0,278 mm. de comprimento por 0,113 a 0,121 mm. de largura, situada acima da zona acetabular e provida de vesícula seminal enovelada. Testículos grandes, situados em campos diferentes mas na mesma zona, parcialmente post-acetabulares, intra-cecais, preovarianos, de forma globosa ou ligeiramente alongados, lobados, medindo

[1] Recebido para publicação a 26 de Maio de 1941.
Trabalho do Laboratório de Helmintologia do Instituto Oswaldo Cruz.

0,464 a 0,747 mm. de comprimento por 0,365 a 0,581 mm. de largura. Ovário pequeno, ovoide, submediano, post-testicular, pre-uterino, medindo 0,104 a 0,147 mm. de comprimento por 0,217 a 0,243 mm. de largura. Espermateca um pouco menor que o ovário, situada logo abaixo deste, medindo 0,060 a 0,095 mm. de comprimento por 0,104 a 0,217 mm. de largura. Glândula de Mehlis situada logo abaixo da espermateca e em contato com ela, de contorno difuso, medindo cerca de 0,087 a 0,130 mm. de comprimento por 0,243 a 0,265 mm. de largura. Canal de Laurer presente. Vitelinos de folículos grandes, predominantemente intra-cecais, apresentando entretanto folículos cecais e extra-cecais menos numerosos, situados imediatamente após a zona ovariana, numa extensão de 0,215 a 0,381 mm. Útero desenvolvido, intra-cecal, com uma, raramente duas alças pre-acetabulares, extendendo-se da zona post-acetabular até à extremidade posterior do corpo, ultrapassando os cecos intestinais. Ovos de tonalidade pardo-amarelada, operculados, medindo 0,058 a 0,067 mm. de comprimen-



Eurytrema minensis s. sp. — Figs. 1 e 2: Aspecto total.

to por 0,029 a 0,037 mm. de largura. Vesícula excretôra provavelmente em Y com ramo impar mais ou menos desenvolvido.

Habitat — Pâncreas de *Dasypus novemcinctus*, L.

Proveniência — Município de Jaboticatúbas, Minas Gerais (Brasil).

Examinamos sete exemplares corados, dos quais dois fragmentados. Observamos que um dos exemplares (fig. 2), apresentava ovos relativamente bem mais curtos que os outros.

Tipo e paratipos na coleção helmintológica do Instituto Biológico "Ezequiel Dias" e na coleção helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz.

Eurytrema minensis n. sp. aproxima-se de *E. concinum* Braun, 1901; de *E. brumpti* Rail., Henry & Joyeux, 1912; de *E. planicipitis* Cameron, 1928 e de *E. epomopis* Sandground, 1937.

Distingue-se, porém, de *E. concinum* pelos vitelinos em folículos volumosos e de situação predominantemente intra-cecal, pelos cecos intestinais relativamente mais curtos, pelo útero intra-cecal, pelo maior tamanho dos ovos, pelo acetábulo que, além de estar colocado em posição relativamente mais anterior, não chega a ser duas vêzes maior que a ventosa oral, pela presença de somente uma ou duas alças uterinas pre-acetabulares e pelo menor comprimento relativo da bolsa do cirro.

Distingue-se de *E. brumpti* pela ausência da massa de alças uterinas pre-acetabulares e opostas ao ovário, pela posição predominantemente intra-cecal dos vitelinos, pela presença de papilas cuticulares e ausência de escamas, pelo menor comprimento relativo da bolsa do cirro, pelo maior tamanho dos ovos e pela posição relativamente anterior do acetábulo.

Distingue-se de *E. planicipitis* pelos cecos intestinais relativamente mais curtos, pela posição predominantemente intra-cecal dos vitelinos, pelo acetábulo que não chega a ser 2 vêzes maior que a ventosa oral, pelo útero intra-cecal, pelo maior tamanho dos ovos e pelo menor comprimento relativo da bolsa do cirro.

Distingue-se, finalmente, de *E. epomopis* pela ausência da massa de alças uterinas pre-acetabulares e opostas ao ovário, pelo menor comprimento relativo da bolsa do cirro, pela posição do acetábulo relativamente muito mais anterior e pela posição predominantemente intra-cecal dos vitelinos.

Ao Prof. Lauro Travassos e ao Dr. J. F. Teixeira de Freitas, pelas facilidades creadas para a execução deste trabalho, quero deixar registrados os meus agradecimentos.

BIBLIOGRAFIA

BHALERAO, G. D., 1936, Studies on the Helminths of India. Trematoda 1. *J. Helminth.*, 3: 163-180.

BRAUN, M., 1901, Ein neues Dicrocoelium aus der Gallenblase der Zibethkatze, *Zbl. Bakt., Orig.*, 30: 700-702, 1 fig.

CAMERON, T. W. M., 1928, On some Parasites of the Rusty Tiger Cat (Felis planiceps). *J. Helminth.*, 6 (2): 87-98.

RAILLIET, A., HENRY, A. & JOYEUX, C., 1912, Sur deux trematodes de Primates. *Bull. Soc. Path. exot.*, 5: 833-837, 1 fig.

SANDGROUND, J. H., 1937, Three new Dicrocoeliids from African Cheiroptera. *Papers of Helminthology, 30 year Jub. Skrjabin, Moscow,* pp. 581-585, 3 figs.

TRAVASSOS, L., 1919, Contribuição para a sistemática dos Dicrocoelinae Looss, 1899. *Arch. Esc. Sup. Agric. e Med. Vet. Nictheroy,* 3 (1-2): 7-24, 14 figs.

Rev. Brasil. Biol., 1 (2): 239-240
Junho, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

NOTICIAS E COMENTARIOS

Laboratório de Bio-Física da Faculdade Nacional de Medicina da Universidade do Brasil.

A primeira reunião de maio, da *Sociedade de Biologia do Brasil,* no laboratório de bio-física da Faculdade Nacional de Medicina da Universidade do Brasil, permitiu aos seus associados a oportunidade de apreciarem intimamente os trabalhos de pesquisa que o Prof. CARLOS CHAGAS, JR. alí vem orientando auspiciosamente.

Essa orientação corresponde à consideração da bio-energética como elemento formal principal no estudo da bio-física e, a organização do laboratório, foi realizada no sentido de satisfazer plenamente essa finalidade.

Deve ser salientado o fato, pouco frequente entre nós, de encontrar-se um laboratório de uma Cadeira de ensino devotado extremamente à pesquisa e dotado de seções auxiliares especializadas, trabalhando numa colaboração muito bem dirigida, no sentido do tema geral escolhido. Esse verdadeiro espírito científico parece ser o prenúncio dos melhores resultados.

As pesquisas atualmente em desenvolvimento, visam esclarecer o modo por que se processa a transformação da energia química em elétrica, nos seres vivos, tendo sido escolhidos como pontos de partida a produção de eletricidade no *Electrophorus electricus* e os potenciais de ação do miocárdio em cultura. No momento, já se procura relacionar êsses potenciais de miocárdio em cultura com os de óxido-redução, intracelulares, e, sobre isto, foi apresentado trabalho à *Academia Brasileira de Ciências*.

A organização do laboratório foi iniciada pela instalação da primeira câmara de oscilografia catódica do Brasil, seguida logo após da montagem da seção de cultura de tecidos.

O desenvolvimento dos temas iniciais determinou a ampliação não só das instalações como tambem do equipo técnico. Assim, conta hoje o laboratório, além do anfiteatro e da sala de aulas práticas, com as seguintes seções:

a) Seção de oscilografia catódica com uma câmara de Faraday e um amplificador de diferenças de potencial de $1:10^6$. Os oscilógrafos usados são do tipo RCA, de tela de 3 a 5 polegadas e em número de dois;

b) seção de respiração celular com uma sub-seção de óxido-redução e outra de enzimas. Na primeira encontra-se uma instalação potenciométrica com eletrômetro de válvula, satisfazendo todas as exigências de sua finalidade. Na segunda, existe uma instalação de Warburg completa;

c) seção de cultura de tecidos com câmara asséptica;

d) seção de metabolismo;

e) seção de medidas físicas;

f) seção de fotografia;
g) seção de preparações químicas;
h) seção de raios X;
i) biblioteca e escritório.

O pessoal do laboratório é o seguinte:

Diretor: Prof. Carlos Chagas, Jr.
Chefe de laboratório: Dr. T. E. L. Lopes, encarregado da seção didática.
Chefe da seção de pesquisas: Dr. J. M. Gonçalves.
Assistentes: Dr. J. B. V. Salles (óxido-redução); D.ª Hertha Meyer (cultura de tecidos); Dr. M. F. Moreira (oscilografia catódica); Dr. A. L. Machado (fermentos respiratórios); Dr. F. B. Sampaio (metabolismo); além dos auxiliares técnicos F. B. Ubatuba e H. M. Ferreira, e um zelador.
O Prof. René Würmser e senhora Würmser devem proximamente vir trabalhar no laboratório, graças à cooperação da Fundação Rockefeller.
Os atuais temas de trabalho são os em torno dos seguintes assuntos:
a) electrogênese e óxido-redução;
b) propriedades rítmicas do miocárdio em cultura;
c) metabolismo térmico e a atividade funcional.

H. T. C.

Retificação

No artigo de Miguel Ozorio de Almeida, H. Moussatché & M. Vianna Dias, "Sur les réflexes de la queue du lezard", publicado no número 1 deste volume, substituir a penultima linha do texto na página 23, "la peau de la partie gauche, les excitations de l'extrémité de la queue" por "27,5 cm. de longueur, dont 15 cm. représentent la longueur de la queue."

(Red.)

Diretoria da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro, filiada à Sociedade de Biologia do Brasil

Presidente: Lauro Travassos; Vice-Presidente: A. Marques da Cunha; Secretário Geral: Gilberto G. Villela; 1.º Secretário: H. Moussatché; 2.º Secretário: J. F. Teixeira de Freitas; Tesoureiro: Genesio Pacheco; Conselho Consultivo: Miguel Ozorio de Almeida, C. Magarinos Torres, H. C. de Souza Araujo.

Diretoria da Sociedade de Biologia de Minas Gerais, filiada à Sociedade de Biologia do Brasil

Presidente: Octavio Magalhães; Vice-Presidente: Moacir Junqueira; 1.º Secretário: Aulo Pinto Viegas; 2.º Secretário: J. Americano Freire; Tesoureiro: J. Noronha Péres; Conselho Consultivo: J. Aroeira Neves, Baeta Viana, e Amilcar Vianna Martins.